

FACULTE de MEDECINE de PARIS

-:-:-:-:-

Année 1961

N°

727

T H E S E

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

Marie-Claire TAILLANDIER

Ex-interne de l'Hôpital Saint-Jacques

Née le 1er Mai 1933 à Neuilly-sur-Seine

-----

Présentée et soutenue publiquement le

-----

CONTRIBUTION A L'ETUDE BIOCHIMIQUE DU CUIVRE  
INTERET DE SON DOSAGE EN CLINIQUE HUMAINE

-----

Président : Monsieur Ch. DEBRAY, Professeur.



FACULTE de MEDECINE de PARIS

-:-:-:-:-

Année 1961

N°

T H E S E

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

Marie-Claire TAILLANDIER

Ex-interne de l'Hôpital Saint-Jacques

Née le 1er Mai 1933 à Neuilly-sur-Seine

-----

Présentée et soutenue publiquement le

-----

CONTRIBUTION A L'ETUDE BIOCHIMIQUE DU CUIVRE  
INTERET DE SON DOSAGE EN CLINIQUE HUMAINE

-----

Président : Monsieur Ch. DEBRAY, Professeur.

R. UNIV.  
BIBLIOTHEEK  
LEIDEN

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

---

**PROFESSEURS**

---

## PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Aubin (A.), Bénard (H.), Bulliard (H.), Cadenat (F.), Chabrol (E.), Champy (C.), Debré (R.), Gastinel (P.), Guillaïn (G.), Halphen (E.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Lantuejoul (P.), Laroche (G.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Loeper (M.), Marion (G.), Mathieu (P.), Mocquot (P.), Mondor (H.), Monod (R.), Moreau (R.), Olivier (E.), Pasteur Vallery-Radot, Petit-Dutaillis, Richet (C.), Strohl (A.), Tanon (L.).

DOYEN . . . . . Léon BINET.

*Membre de l'Institut*

ASSEESSEUR. . . . . Jean VERNE.

## I. — PROFESSEURS

|                                                                                                 | MM.                        |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| Anatomie . . . . .                                                                              | DELMAS (A.)                |
| Anatomie pathologique . . . . .                                                                 | DELARUE (J.)               |
| Anesthésiologie . . . . .                                                                       | BAUMANN (J.)               |
| Biochimie médicale . . . . .                                                                    | JAYLE (M. F.)              |
| » » (Prof: à titre personnel) . . . . .                                                         | ETTORI (J.)                |
| » » (Prof: à titre personnel) . . . . .                                                         | SCHAPIRA (G.)              |
| Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports . . . . .                               | CHAILLEY-BERT (P.)         |
| Biologie médicale . . . . .                                                                     | FAUVERT (R.)               |
| » » (Prof: à titre personnel) . . . . .                                                         | BOURLIERE (F.)             |
| Cancérologie médicale et sociale . . . . .                                                      | BERNARD (J.)               |
| Clinique carcinologique chirurgicale (Necker) . . . . .                                         | REDON (H.)                 |
| Clinique cardiologique (Broussais) . . . . .                                                    | MOUQUIN (M.)               |
|                                                                                                 | SICARD (A.)                |
|                                                                                                 | N.                         |
| Cliniques chirurgicales . . . . .                                                               | PATEL (J.)                 |
|                                                                                                 | CORDIER (G.)               |
|                                                                                                 | GOSSET (J.)                |
|                                                                                                 | MOULONGUET (P.)            |
|                                                                                                 | LORTAT-JACOB (J.-L.)       |
|                                                                                                 | FÈVRE (M.)                 |
| Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades) . . . . .                     | MERLE D'AUBIGNÉ (R.)       |
| Clinique chirurgicale orthopédique et réparatrice (Cochin) . . . . .                            | GAUDART-D'ALLAINES (F. de) |
| Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais) . . . . .                                   | MATHEY (J.)                |
| Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laënnec) . . . . .                                     | DECOURT (J.)               |
| Clinique endocrinologique (Pitié) . . . . .                                                     | LAMY (M.)                  |
| Clinique de génétique médicale (Enfants-Malades) . . . . .                                      | FUNCK-BRENTANO (P.)        |
| Clinique gynécologique (Broca) . . . . .                                                        | DEGOS (R.)                 |
| Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (St-Louis) . . . . .                            | CATHALA (J.)               |
| Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades) . . . . .                                   | MOLLARET (P.)              |
| Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard) . . . . .                                   | DELAY (J.)                 |
| Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Ste-Anne) . . . . .                           | HAMBURGER (J.)             |
| Clinique des maladies métaboliques (Necker) . . . . .                                           | MARCHAL (G.)               |
| Clinique des maladies du sang (Broussais) . . . . .                                             | N.                         |
| Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière) . . . . .                                | LENÈGRE (J.)               |
|                                                                                                 | SOULIÉ (P.)                |
|                                                                                                 | JUSTIN-BESANÇON (L.)       |
| Cliniques médicales . . . . .                                                                   | BROUET (G.)                |
|                                                                                                 | BARIÉTY (M.)               |
|                                                                                                 | DREYFUS (G.)               |
|                                                                                                 | KOURILSKY (R.)             |
| Clinique médicale d'hydrologie thérapeutique et climatologie (Bichat) . . . . .                 | DEBRAY (C.)                |
| Clinique médicale propédeutique (Broussais) . . . . .                                           | GENNES (L. de)             |
| Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu) . . . . . | DEROT (M.)                 |
| Clinique de neuro-chirurgie (Pitié) . . . . .                                                   | DAVID (M.)                 |
| Clinique neurologique (Salpêtrière) . . . . .                                                   | GARCIN (R.)                |
| Cliniques obstétricales . . . . .                                                               | LACOMME (M.)               |
|                                                                                                 | MERGER (R.)                |
| Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal) . . . . .                                   | VARANGOT (J.)              |
| Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu) . . . . .                                                 | RENAUD (G.)                |
| Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière) . . . . .                                      | AUBRY (M.)                 |
| Clinique de pédiatrie et de puériculture (St-Vincent-de-Paul) . . . . .                         | LELONG (M.)                |
| Clinique de pédiatrie Sociale (Enfants-Malades) . . . . .                                       | MARIE (J.)                 |
| Clinique de pneumo-physiologie (Laënnec) . . . . .                                              | BERNARD (E.)               |
| Clinique psychiatrique infantile (Salpêtrière) . . . . .                                        | MICHAUX (L.)               |
| Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin) . . . . .                                 | COSTE (F.)                 |
| Clinique stomatologique (Pitié) . . . . .                                                       | DECHAUME (M.)              |
| Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard) . . . . .                                       | N.                         |
| Clinique thérapeutique médicale (St-Antoine) . . . . .                                          | LEMAIRE (A.)               |
| Clinique urologique (Cochin) . . . . .                                                          | N.                         |
| Embryologie . . . . .                                                                           | GIROUD (A.)                |
| » » (Prof: à titre personnel) . . . . .                                                         | TUCHMANN-DUPLESSIS (H.)    |
| Histoire de la médecine et de la chirurgie (Lariboisière) . . . . .                             | SÈZE (S. de)               |
| Histologie . . . . .                                                                            | VERNE (J.)                 |

|                                                                  |                  |             |
|------------------------------------------------------------------|------------------|-------------|
| Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau) . . . . . | MM.              | TURPIN (R.) |
| Hygiène et médecine préventive . . . . .                         | JOANNON (P.)     |             |
| » » (Prof <sup>r</sup> à titre personnel) . . . . .              | DEPARIS (M.)     |             |
| Médecine du Travail . . . . .                                    | DESOILLE (H.)    |             |
| Médecine légale . . . . .                                        | PIÉDELIEVRE (R.) |             |
| Microbiologie (Bactériologie et virologie) . . . . .             | FASQUELLE (R.)   |             |
| Parasitologie . . . . .                                          | GALLIARD (H.)    |             |
| » (Prof <sup>r</sup> à titre personnel) . . . . .                | BRUMPT (L. C.)   |             |
| Pathologie chirurgicale . . . . .                                | COUVELAIRE (R.)  |             |
| » » (Prof <sup>r</sup> à titre personnel) . . . . .              | LAURENCE (G.)    |             |
| Pathologie exotique . . . . .                                    | LAVIER (G.)      |             |
| Pathologie expérimentale et comparée . . . . .                   | MERKLEN (F.-P.)  |             |
| Pathologie médicale . . . . .                                    | MILLIEZ (P.)     |             |
| Pathologie respiratoire . . . . .                                | TURIAF (F.)      |             |
| Pathologie et thérapeutique générales . . . . .                  | BOUDIN (G.)      |             |
| Pharmacologie . . . . .                                          | CHEYMOL (J.)     |             |
| » (Prof <sup>r</sup> à titre personnel) . . . . .                | LÉVY (Mlle J.)   |             |
| Physiologie . . . . .                                            | BINET (L.)       |             |
| » (Prof <sup>r</sup> à titre personnel) . . . . .                | BARGETON (D.)    |             |
| » » . . . . .                                                    | PARROT (J.)      |             |
| Physiologie et pathologie obstétricale . . . . .                 | LEPAGE (F.)      |             |
| Physique médicale . . . . .                                      | DOGNON (A.)      |             |
| » » (Prof <sup>r</sup> à titre personnel) . . . . .              | DJOURNO (A.)     |             |
| Radiologie médicale . . . . .                                    | DESGREZ (H.)     |             |
| Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale . . . . .      | LÉGER (L.)       |             |
| Thérapeutique . . . . .                                          | CONTE (M.)       |             |

## II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE, PROFESSEURS AGRÉGÉS ET MAÎTRES DE CONFÉRENCES - AGRÉGÉS

| MM.                                      | MM.                                |
|------------------------------------------|------------------------------------|
| Anatomie. . . . .                        | Ophtalmologie. . . . .             |
| { CABROL (C.)                            | { BRÉGEAT (P.)                     |
| { COUINAUD (C.)                          | { SARAUX (H.)                      |
| { OLIVIER (G.)                           |                                    |
| { GAUTHIER-VILLARS (M <sup>lle</sup> P.) | Orthopédie. . . . .                |
| pr. s. ch.                               | { JUDET (R.)                       |
| Anatomie pathologique . . . . .          | { RAMADIER (J.)                    |
| { BUSSER (F.)                            | Oto-rhino-Laryngologie . . . . .   |
| { GOUYGOU (Ch.)                          | { DEBAIN (J.)                      |
| { ORCEL (L.)                             | Parasitologie. . . . .             |
| { PAILLAS (J.)                           | { CHABAUD (A.)                     |
| Anesthésiologie. . . . .                 | { BARCAT (J.)                      |
| { VOURC'H (G.)                           | { BINET (J.-P.)                    |
| Bactériologie. . . . .                   | { CAUCHOIX (J.)                    |
| { BARBIER (P.)                           | { CHATELIN (G.-L.)                 |
| { CHRISTOL (D.)                          | { DUBOST (Ch.)                     |
| { TOURNIER (P.)                          | { DUBOST (Cl.)                     |
| Biochimie médicale. . . . .              | Pathologie chirurgicale . . . . .  |
| { DESGREZ (P.), pr. s. ch.               | { FAUREL (J.)                      |
| { POLJANSKI (J.), m. conf.               | { FLABEAU (F.)                     |
| Biologie appliquée à l'Éducation         | { GERMAIN (A.)                     |
| Physique et aux Sports . . . . .         | { LOYGUE (J.)                      |
| { PLAS (F.)                              | { MERCADIER                        |
| Carcinologie. . . . .                    | { PERROTIN (J.)                    |
| { DENOIX (P.)                            | { ROBERT (H.)                      |
| { MATHE (G.)                             | { THOMERET (G.)                    |
| Dermato-Syphiligraphie. . . . .          | Pathologie exotique . . . . .      |
| { DUPERRAT (B.)                          | { SCHNEIDER (J.)                   |
| Electro-Radiologie . . . . .             | { CROSNIER (J.)                    |
| { LEDOUX-LEBARD (G.)                     | { HARTMANN (L.)                    |
| Hématologie . . . . .                    | Pathologie expérimentale . . . . . |
| { BILSKI-PASQUIER (G.)                   | { LÉPER (J.)                       |
| { DAUSSET (J.)                           | { MAURICE (J.)                     |
| { COUJARD (R.) pr. s. ch.                | { RICHET (G.)                      |
| Histologie. . . . .                      | { AUSSANNAIRE (M)                  |
| { MAROIS (M.)                            | { BOUR (H.)                        |
| { RACADOT (J.)                           | { BOUVIER (J.)                     |
| Hydrologie . . . . .                     | { BOUVRAIN (Y.)                    |
| { CORNET (A.)                            | { BRICAIRE (H.)                    |
| Hygiène. . . . .                         | { BRISSAUD (H.)                    |
| { BOYER (J.), pr. s. ch.                 | { BROCARD (H.)                     |
| { CORRE-HURST (M <sup>me</sup> L.)       | { BUGÉ (A.)                        |
| Maladies infectieuses . . . . .          | { CASTAIGNE (P.), m. conf.         |
| { BASTIN (R.)                            | { CATINAT (J.)                     |
| { DUPONT (V.)                            | { CONTAMIN (F.)                    |
| { DEROBERT (L.), pr. s. ch.              | { COURY (C.)                       |
| { HADENGUE (A.)                          | { FREZAL (J.)                      |
| Médecine légale. . . . .                 | { HOUSSET (E.)                     |
| { FOURNIER (E.)                          | { LAROCHE (Ol.)                    |
| { GUENIOT (M.)                           | { LESOBRE (R.)                     |
| Médecine du travail. . . . .             | { MACREZ (G.)                      |
| { ALBAHARY (G.)                          | { NICK (J.)                        |
| Neurologie. . . . .                      | { PEQUIGNOT (H.) pr. s. ch.        |
| { LHERMITTE (F.)                         | { ROYER (P.)                       |
| { GRANJON (A.)                           | { WOLFROMM (R.)                    |
| { HERVET (E.)                            |                                    |
| { LE LORIER (G.)                         |                                    |
| Obstétrique . . . . .                    |                                    |
| { MORIN (P.)                             |                                    |
| { MUSSET (R.)                            |                                    |
| { ROBEY (M.)                             |                                    |
| { THOYER-ROZAT (J.)                      |                                    |

|                              | MM.                     |                              | MM.                                    |
|------------------------------|-------------------------|------------------------------|----------------------------------------|
| Pédiatrie-Puériculture . . . | JOSEPH (R.)             | Pneumo phthisiologie . . .   | KREIS (B.)                             |
|                              | MANDE (R.)              | Psychiatrie . . . . .        | PICHOT (P.)                            |
|                              | MOZZICONACCI (P.)       | Psychiatrie infantile. . . . | DUCHÉ (D.)                             |
|                              | POLONOVSKI (G.)         | Rhumatologie . . . . .       | DELBARRE (F.)                          |
|                              | ROSSIER (A.)            |                              |                                        |
| Pharmacologie. . . . .       | BOISSIER (J.)           | Stomatologie. . . . .        | CERNÉA (P.)                            |
|                              | LECHAT (P.)             |                              | CHAPUT (M <sup>me</sup> A.), m.c. agr. |
| Physiologie . . . . .        | DEJOURS (P.)            |                              | GRELLET (M.)                           |
| Physique médicale . . . .    | GOUGEROT (L.), m. conf. | Thérapeutique . . . . .      | CHASSAGNE (P.)                         |
|                              | pr. s. ch.              |                              | LAMOTTE (M.)                           |
|                              | KELLERSHOHN             | Urologie . . . . .           | QUENU (L.)                             |

### III. — PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE à titre permanent.

|                             | MM.                     |                              | MM.           |
|-----------------------------|-------------------------|------------------------------|---------------|
| Anatomie . . . . .          | DEBEYRE                 | Clinique obstétricale . . .  | GRASSET (J.)  |
| Clinique chirurgicale . . . | ABOULKER (P.)           |                              | MAYER (M.)    |
|                             | AMELINE (A), pr. s. ch. |                              | RAVINA (J.)   |
|                             | HUGUIER (J.)            | Clinique ophtalmologique .   | DESIGNES (P.) |
|                             | OLIVIER (G.)            |                              | OFFRET (G.)   |
|                             | PADOVANI (P.)           | Clinique oto-rhino-laryngo-  |               |
|                             | POILLEUX (F.)           | logique . . . . .            | MADURO (R.)   |
|                             | ROUX (M.)               | Clinique pédiatrique et pué- |               |
| Clinique médicale. . . . .  | VERNE (J.-M.)           | riculture . . . . .          | LAPLANE (R.)  |
|                             | DOMART (A.)             | Clinique psychiatrique. . .  | BARUK (H.)    |
|                             | PERRAULT (M.)           | Clinique urologique . . .    | KUSS (R.)     |
|                             | RAMBERT (P.)            | Médecine légale . . . . .    | GAULTIER      |
|                             | THIEFFRY (S.)           |                              |               |

### IV. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

|                                   |                          |
|-----------------------------------|--------------------------|
| Bactériologie. . . . .            | HAUDUROY (P.) Pr. s. ch. |
| Pathologie chirurgicale . . . . . | RUDLER (J.) Pr. s. ch.   |

|                                                           |                |
|-----------------------------------------------------------|----------------|
| V. — CHARGÉS DE COURS D'HYGIÈNE SCOLAIRE ET UNIVERSITAIRE | BOLTANSKI (E.) |
|                                                           | LAUNAY (G.)    |

Secrétaire général de la Faculté . . M. LENA (J.)

Secrétaires. . . . . M<sup>me</sup> BEURLAND (H.), M<sup>lle</sup> CHAINTREUIL (G.), M<sup>me</sup> ROCHE (L.)

Conservateur en Chef . . . . . M. le Docteur HAHN (A.)

Conservateur . . . . . M<sup>lle</sup> DUMAITRE (P.)

Bibliothécaires. . . . . { Mmes CONTET (J.), FORGET (F.),  
Mlles LAURENT (H.), LE NOIR (G.), QUIÉVREUX (E.)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MES PARENTS,

A MA FAMILLE,

A MES AMIS.



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41550206\\_0011](https://archive.org/details/IA41550206_0011)

A notre Président de Thèse, Monsieur le Professeur  
Ch. DEBRAY, Titulaire de la chaire de Clinique  
Médicale d'Hydrologie thérapeutiques et climatologie,  
Médecin de l'Hôpital Bichat, Chevalier de la  
Légion d'Honneur,  
qui nous a fait le grand honneur d'accepter la  
présidence de cette thèse.

En hommage de respectueuse reconnaissance.



A mes Maîtres de la Faculté de Médecine et des  
Hôpitaux de Paris.

A Monsieur M. PESTEL, Médecin de l'Hôpital Bichat,  
avec ma reconnaissance pour toute l'aide qu'il a  
bien voulu apporter à ce travail.

A Monsieur R.Y. ~~de~~ MAUVERNAY, Chef des Laboratoires  
de Recherches T.E. de Riom, en remerciement pour son  
aimable collaboration à cette étude.

A Messieurs ~~les~~ Membres de mon Jury de Thèse.



CONTRIBUTION A L'ETUDE  
BIOCHIMIQUE DU CUIVRE



INTERET DE SON DOSAGE  
EN CLINIQUE HUMAINE

-:-:-:-:-



## INTRODUCTION

Les deux métaux lourds Cu et Fe jouent un rôle très important en médecine depuis des siècles et dans tous les pays. Le papyrus Ebers relate l'emploi du cuivre en thérapeutique au cours de la 18ème dynastie d'Egypte, vers 1500 avant J.C. Dès cette époque, on préconise le cuivre dans la "chlorose égyptienne" et dans les inflammations ganglionnaires.

Dans les écrits d'HIPPOCRATE, le cuivre est mentionné comme remède intérieur en cas de pneumonie et d'empyème.

PAULUS d'AEgina, qui écrit au VIIème siècle une encyclopédie médicale, mentionne le cuivre comme remède d'expectorations et indique aussi son emploi dans un certain nombre d'affections couvrant presque toute la pathologie interne...

PARACELSE reprend ces expériences à la Renaissance : il est le premier à employer le cuivre dans les maladies mentales (épilepsie, hystérie, et "certains cas de folie"). Les écrits de Paracelse ont été mis à profit pendant des siècles en médecine pratique.

HAHNEMANN, dans son lexique pharmaceutique, en 1793 (antérieur à sa "Matière Médicale Homéopathique"), signale le "Kupfervitriol" comme médicament de l'épilepsie, de l'hypocondrie, de l'hystérie, - également de l'anasarque et des maladies cachexiques.

Le cuivre fut aussi utilisé de longue date dans le traitement des plaies, en usage externe et en usage interne dans un grand nombre d'affections dont la syphilis, la tuberculose, et toutes les infections ; de sorte que RADEMACHER, au début du XIXème siècle, décrivait le cuivre comme un remède universel (par opposition aux remèdes organiques) que nous pourrions rattacher de nos jours aux remèdes ayant une action non-spécifique, et agissant par l'intermédiaire du système réticulo-endothélial.

BURQ, au XIXème siècle, fit remarquer que des ouvriers travaillant dans des mines de cuivre avaient échappé à une épidémie de choléra : on employa utilement dès lors le cuivre dans la prophylaxie du choléra.

Les médecins français du XIXème siècle insistent surtout sur son rôle anti-infectieux ; il faut signaler en particulier les travaux de



LUTON père et fils, à propos de la tuberculose pulmonaire et du lupus érythémateux.

De nos jours, l'intérêt thérapeutique du cuivre est passé au second plan, surtout depuis la découverte des antibiotiques. Au contraire, depuis le début de ce siècle, son étude biochimique a été entièrement renouvelée parallèlement à celle des autres métaux lourds.

Négligés autrefois comme des impuretés dénuées d'intérêt biologique et véhiculées, au hasard des contacts fortuits du sol aux plantes et de là chez les animaux, ou dédaignés comme des souillures apportées par l'inhalation des poussières minérales, ces éléments sont considérés aujourd'hui comme faisant partie intégrante des tissus ou des humeurs, car ils prennent part aux processus enzymatiques et, par conséquent, à la vie même des cellules.

L'utilisation des substances radio-actives, enfin, a permis tout récemment d'approfondir nos connaissances sur le métabolisme du cuivre dans l'organisme humain.

A vrai dire, l'histoire du cuivre en biologie comporte trois étapes plus ou moins mal définies :

- dans une première phase, ce métal fut surtout considéré comme un élément toxique.
- dans une deuxième phase, on étudia plus spécialement ses propriétés pharmaco-dynamiques et thérapeutiques.
- la troisième enfin, actuelle, est seule vraiment physiologique : elle coïncide avec la découverte du rôle biochimique essentiel du cuivre dans les oxydations, tant dans le règne animal que dans le monde végétal.

Cette étude se propose de présenter en une revue succincte un résumé des travaux les plus importants parus sur cette question ces dernières années. Nous envisagerons les données recueillies sur le métabolisme et la physiopathologie du cuivre :

- dans le règne végétal,
- et dans le règne animal ;
- ses méthodes de dosage et leur interprétation chez l'homme.



- I - CUIVRE dans le REGNE VEGETAL

Dans le règne végétal, le cuivre se place parmi les métaux catalytiques les plus importants : il a justifié à lui seul un Symposium en 1950.

Dès 1817 (MEISSNER), la présence du cuivre dans les plantes était signalée.

MAQUENNE et DEMOUSSY (1913) ont montré que le cuivre est un élément très répandu dans le règne végétal : toutes les plantes qui ont été soumises à l'analyse en contenaient - il y varie entre 0,0003 et 0,002% de la substance sèche.

Il existe dans tous les organes, mais les tissus où l'activité vitale est la plus grande sont les plus riches.

Les végétaux s'emparent avec une extrême avidité du cuivre contenu dans le sol, même quand il y est en quantités minimales.

C'est un élément essentiellement migrateur : il se déplace dans les organes en même temps et dans le même sens que les substances alimentaires.

Les bourgeons au printemps en contiennent une proportion importante. Chez les espèces à feuilles persistantes, les feuilles de l'année en contiennent plus que celles de l'année précédente. Après la floraison, le cuivre se dirige vers les fruits. Il a été constaté, chez les légumineuses, qu'il s'accumule dans les graines. Il se trouve aussi bien dans les végétaux inférieurs que chez les plantes supérieures. Les champignons en sont particulièrement riches. Il existe en solution dans les liquides des tissus, mais paraît aussi pouvoir se trouver en combinaison avec les protéïdes.

Non seulement ce cation joue un rôle dans la photosynthèse, participant ainsi à la formation de la chlorophylle et à la respiration des plantes, mais encore exerce une action spécifique sur certaines oxydases.

BERTRAND et JAVILLIER ont montré que le cuivre, seul ou associé au manganèse était nécessaire au développement d'*aspergillus niger*.

Plus récemment, des travaux faits au Japon en 1955 ont montré que l'addition de cuivre au milieu de culture d'*aspergillus orizae*, augmentait la production de pigment vert : le cuivre était employé sous forme de sulfate, et la concentration optima fut établie par ces auteurs à  $\text{Cu } 10^{-6}$ .



Selon ARNON et STOUT (1939), le cuivre seul a une action spécifique sur le développement de la tomate, et un effet bactéricide. En l'absence de cuivre on a constaté que les feuilles de tomate se ratatinent et prennent une couleur bleu-verdâtre, symptôme de nécrose par carence en cuivre et en zinc : deux X de cuivre par plant sont suffisants pour entraver l'apparition de ces symptômes de carence ; cependant, cette quantité ne doit pas être supérieure à 0,03 mg, pour ne pas léser le système circulatoire de la tige.

Afin qu'une plante croisse normalement, le sol doit apporter une certaine quantité de cuivre, autrement apparaît la maladie dite du défriement (lande à bruyère, ou reclamation disease<sup>8</sup>).

ADDISON, BRYAN et HUNTER (1927) rapportèrent que l'addition de sulfate de cuivre aux terres bourbeuses, incultes, stimule la croissance d'un nombre considérable de plantes et que cette stimulation est due à l'assimilation du cuivre par les radicelles, témoignant ainsi de l'action de cet élément sur la croissance.

Pour BOULD et TOLHURST (1952), la carence des arbres fruitiers est fréquente, plus sensible chez les pommiers et les poiriers : dépérissement avec chlorose, retards de floraison. Les dosages sur les feuilles permettent souvent de constater des taux inférieurs à 5 pp.m. L'arrosage avec des solutions cupriques améliore aussitôt l'état des arbres.

Cette carence provient essentiellement du sol et une teneur en Cu supérieure à 2 p.p.m. la rend évitable. Plus étudiée en Grande-Bretagne, elle existe dans tous les pays et pour toutes les plantes.

En France, Monsieur COPPENET et Madame J. CALVEZ signalent en 1952 une déficience importante en cuivre dans <sup>certaines</sup> ~~les~~ régions granitiques de Bretagne ; l'apport de quelques kilogrammes de Cu à l'hectare permet l'amélioration des récoltes de blé, d'orge, d'avoine, de trèfle violet et de petits pois.

Les effets très manifestes de la carence cuprique sur le développement des organes reproductifs du blé, de l'avoine, firent l'objet de travaux récents aux USA. DICK prétend que même dans les sols non carencés (New Jersey), la moisson gagne en qualité par un apport de sulfate de cuivre (1953).

De même les travaux russes notent un accroissement remarquable de la qualité des plantes fourragères et des trèfles résistant au froid dans la



Transouralie du Nord.:

MIKHALOVSKI J et SOPEL'NJAK (1953) révèlent que le traitement des graines de trèfles par une solution de sulfate de cuivre, avant le semis, améliore la masse végétative et accélère le développement des organes reproducteurs, tout en augmentant parallèlement la résistance aux facteurs défavorables du milieu.

KAPELLE (1951) insiste sur les maladies de carence du bétail, consécutives à celle de la plante et du sol.

De même, selon ANDERSON (1951), l'apport de cuivre et de zinc sous forme de sulfates aux pâturages du sud-est de l'Australie a une action bénéfique sur le bétail. Plus que la quantité, importe, pour le sol, la solubilité : de jeunes moutons peuvent être anémiés ou ataxiques sur des pâturages au sol riche en cuivre insoluble.

Nous avons relevé aussi des expériences du même ordre poursuivies de manière continue en Floride entre 1930 et 1940, et qui aboutissent à un résultat semblable : les auteurs concluent que l'addition de sulfate de cuivre au sol des pâturages résoud le problème de leur fertilité et améliore l'état du bétail.

D'autres expériences de fumure avec des scories de cuivre mélangées au sol ont donné des résultats satisfaisants, tant sur les récoltes que sur les animaux, chez lesquels les symptômes de carence en cuivre disparaissent, tandis que le taux du cuivre sanguin redevenait normal (expériences sur les terres de la rivière Clayn à Bergharen).

Nous avons vu que l'*Aspergillus niger* ne se développe qu'en présence de cuivre ; MULDER a tiré parti de ce fait pour établir une méthode biochimique élégante, permettant de déterminer la teneur en cuivre du sol : dans une solution contenant 0,05 % de cuivre, l'*Aspergillus niger* se développe en formant seulement un mycelium blanc ; en présence de 0,1 %, on voit une petite quantité de spores jaunes, et pour 3 % on observe les spores noires caractéristiques. Pour déterminer le cuivre du sol, il suffit d'un gramme de terre desséchée à l'air ; pour analyser les semences, on ajoute les cendres d'un demi-gramme : on peut ainsi reconnaître si un sol est ou non propre à la culture. S'il n'apparaît pas de spores jaunes d'*Aspergillus*, le sol est impropre à la culture, tandis que la formation de spores noires indique que le sol contient une quantité suffisante de cuivre.

Des méthodes de ce genre ont permis de préciser les données sur la



composition des sols et sur leur richesse en oligo-éléments : on a pu ainsi établir que les couches supérieures du sol contiennent un taux plus important d'oligo-éléments que les couches inférieures ; et que les plantes telles que l'avoine épuisent les métaux lourds, dissous dans le sol en très petites quantités (RADEMACHER). Pendant leur développement, le taux du cuivre subit de grandes fluctuations : la plus grande partie du métal se localise dans les organes de reproduction et dans les cellules parenchymateuses, comme l'ont démontré SARATA, pour le riz, et KAMEGAKI pour l'épi-nard.

Les agronomes connaissent bien l'importance des oligo-éléments dans le sol, et l'influence capitale des engrais et des amendements sur sa composition. Ils ont ainsi établi que les terres légères (sablonneuses) laissant pénétrer beaucoup d'eau, sont très pauvres en oligo-éléments. Les tourbes sont carencées en cuivre et en manganèse. Les terres acides (bruyères) sont aussi carencées en cuivre. Au contraire, on trouve du cuivre dans le granit, le quartz, les schistes.

Dans les régions agricoles où on utilise beaucoup d'engrais chimiques, régions dites "terres avancées", on constate beaucoup de carences en oligo-éléments, car on n'utilise comme engrais que l'azote, le phosphore et le potassium. En cas de surcharge, on constate aussi des carences en manganèse, bore, zinc et cuivre.

D'autres facteurs interviennent : l'assimilabilité est différente pour la plante suivant la forme chimique des oligo-éléments ; le pH et le rH du sol ont aussi leur importance : on comprend donc toute la complexité du problème et son importance, si l'on pense aux symptômes de carences qui peuvent se manifester tant chez les plantes que, par suite, chez les animaux et chez l'homme. Le médecin ne restera pas indifférent à cette notion de qualité "intérieure" des aliments, si importante pour la santé de l'homme.



Teneur en cuivre de quelques aliments -

Pour l'homme, les besoins quotidiens requièrent un minimum de 80  $\mu$  par kg chez l'enfant, et de 30  $\mu$  par kg chez l'adulte.

L'homme adulte normal ingère en moyenne 2 à 3 mg de Cu par jour, ce qui représente la quantité nécessaire pour maintenir un bilan cuprique positif. Cette quantité varie cependant selon les régimes : inférieure dans certaines contrées anglaises et en Ecosse, voisine du double aux Indes.

Des études entreprises en Amérique et en Angleterre mettent en évidence, par ailleurs, la richesse en Cu de certains aliments protéiniques (foie, cervelle, rognon, coeur), et de quelques crustacés (huîtres en particulier), ainsi que des noix, des fruits à noyaux et du cacao. Les teneurs en cuivre s'échelonnent de 20 à 30 p.p.m. jusqu'à 400 p.p.m.

Les aliments les plus pauvres en cuivre sont le lait et les produits laitiers, le lard, la margarine (au maximum 0,5 p.p.m.) en cuivre, à l'exception des crustacés et des poissons nettement plus riches en cuivre.

Nous donnons ici un tableau publié par KARP, indiquant la teneur en cuivre des aliments parallèlement à leur richesse en vitamine B.

.....



## SUBSTANCES RICHES en VITAMINE B

| Substances              | Teneur en Cu donnée en Mg/kg<br>de substance fraîche |
|-------------------------|------------------------------------------------------|
| Farine de riz, fourrage | 35                                                   |
| Germes de riz           | 35                                                   |
| Germes de froment       | 30                                                   |
| Jaune d'oeuf            | 25                                                   |
| Levure de boulanger     | 25                                                   |
| Levure de bière         | 18                                                   |
| Lentilles               | 20                                                   |
| Petits pois             | 12                                                   |

| Substances             | Teneur en Cu donnée en mg/kg<br>de substance fraîche |
|------------------------|------------------------------------------------------|
| Farine de riz          | 3                                                    |
| Grains de riz glacé    | 4                                                    |
| Farine de froment      | 2,5                                                  |
| Farine de seigle       | 1,7                                                  |
| Farine d'avoine        | 6                                                    |
| Blancs d'oeufs         | 4,5                                                  |
| Cèpes                  | 3,3                                                  |
| Pulpe de poire         | 1,6                                                  |
| Pulpe de prune         | 0,35                                                 |
| Pulpe de pomme         | 0,35                                                 |
| Pomme de terre         | 1,5                                                  |
| Jus de citron          | 0,15                                                 |
| Jus d'orange           | 0,1                                                  |
| Jus de tomate          | 0,45                                                 |
| Poisson                | 0,08                                                 |
| Jus de citron          |                                                      |
| Jus d'orange           |                                                      |
| Jus de tomate          |                                                      |
| Huile de foie de morue |                                                      |



## -II- CUIVRE dans le REGNE ANIMAL

### Rappel Historique.

Le rôle du cuivre chez les êtres inférieurs (mollusques, arthropodes et poissons) a été établi avec certitude par ROSE et BODANSKY (1920) qui remarquèrent que la teneur d'un organisme en ~~de~~ métal diminue à mesure que celui-ci s'élève dans l'échelle zoologique.

Le taux du cuivre chez les vertébrés supérieurs, déjà étudié par WARBURG en 1927, est particulièrement fixe.

La carence en cuivre se manifestant chez l'animal par l'apparition de diarrhées et principalement par une anémie, les premières études portèrent en conséquence sur l'hématopoïèse. D'autre part, l'amélioration de l'état sanitaire des troupeaux justifia l'apport empirique de cuivre au bétail (on se souvient des expériences faites en Floride et en Australie, entre autres, dont nous avons parlé dans le chapitre précédent).

MAC HARGUE (1926) constate que le cuivre accélère le développement pondéral des animaux, et augmente le taux de l'hémoglobine sanguine. Il attire en même temps l'attention sur le fait que, chez des rats soumis à un régime carencé en certains métaux lourds et en vitamines, l'adjonction de cuivre, zinc ou manganèse entraîne une augmentation du poids des animaux qui se révéla maxima pour le groupe ayant reçu le cuivre.

En 1928, les travaux de HART, STEENBOCK, WADDEL et ELVEHJEM sur l'anémie des rats par sous-alimentation provoquèrent une véritable surprise : ces auteurs constatèrent que l'anémie se produisait malgré l'ingestion de fer pur, alors que l'adjonction de 0,001 mg de cuivre la guérissait.

De même des poussins, soumis à un régime anémiant, furent guéris par adjonction de 0,1 mg à 0,2 mg de cuivre par jour ; ces expériences furent confirmées par MAC HARGUE, HEALY et HILL en 1928 qui, sur des rats soumis à un régime lacté, employant tour à tour des cendres de foie exemptes ou non de cuivre, obtinrent, par ces dernières, une guérison de l'anémie : l'hémoglobine passant de 70 et 70,8% à 90,6 et 91%.

Ces résultats furent, à l'époque, contestés par les uns (à savoir DRABKIN, WHIPPLE et ROBSCHETT-ROBBINS), confirmés par les autres



(KRAUSS, BOERNER, FLINN).

Depuis lors, la chimie du cuivre a donné lieu à un nombre considérable de recherches en vue d'éclairer son rôle biologique et physiologique et de préciser les processus enzymatiques auxquels il participe. L'intervention du cuivre dans la formation de l'hémoglobine est actuellement bien établie, et on est même parvenu, par des recherches très poussées, à isoler les différents enzymes cupriques : tyrosinase, butyryl-coenzyme A, déshydrogénase, etc., actifs seulement en présence de cuivre.

L'emploi du cuivre radio-actif Cu 64, depuis une quinzaine d'années, a permis de compléter nos connaissances, et en particulier de préciser la répartition du cuivre dans l'organisme tant dans des conditions physiologiques que dans des conditions spéciales de régime par exemple.

Le cuivre radio-actif fut utilisé pour la première fois en 1942 par YOSHIIKAWA et ses collaborateurs ; administré chez le chien, il apparaît rapidement dans le sang : son maximum de concentration s'établit entre 2 et 5 heures.

D'autre part, SCHUBERT et coll., en 1943, notent que Cu 64 donne au sang du chien une radioactivité décroissant très rapidement, ce qui laisse supposer son absorption par les tissus et les capillaires.

Au niveau rénal, le cuivre radioactif est fixé par le cortex et non par le bassin.

De plus, pour SCHULTZE et SIMMONS, le rein d'un rat anémié fixe une fois et demie à trois fois plus de cuivre que le foie. Ce résultat est confirmé en 1948 par SCHUBERT qui indique que le maximum d'activité est atteint en huit heures.

D'autres expériences avec le Cu 64 ont été réalisées en particulier récemment par l'équipe de recherche T.E. de Riom, des travaux ont été faits sur les souris, dont nous reparlerons à propos des infections.

Nous allons essayer dans ce chapitre de résumer les notions acquises en divisant notre travail en plusieurs parties :

- le cuivre dans le sang,
- le cuivre dans les tissus,
- le cuivre dans le lait,
- métabolisme du cuivre,
- métabolismes comparés du cuivre et du fer,
- enfin, nous étudierons les effets de la carence en cuivre chez l'animal.



## I - Le cuivre dans le sang.

Nous reviendrons plus loin sur les méthodes de dosage employées pour déterminer le taux du cuivre dans le sang entier : globules rouges et plasma ; qu'il nous suffise de dire ici que la méthode qui fut la plus habituellement appliquée jusqu'à ces dernières années est celle de MAC FARIANE, dans laquelle le cuivre est évalué par colorimétrie grâce au diéthylldithiocarbamate de sodium qui sert de réactif. Cette méthode fut elle-même perfectionnée, et d'autres méthodes furent depuis décrites, auxquelles nous réservons un chapitre.

Nous rappelons que le fer est réparti entre l'Hémoglobine et la sidérophiline (bêta I globuline).

Quant au cuivre, il est réparti dans le sang à peu près uniformément entre globules et plasma.

LESNE, ZIZINE et BRISKAS (vers 1954), au cours d'une étude chez des enfants âgés de 7 à 14 ans, ont trouvé pour le sang total 140 à 200 gammas de cuivre pour mille dont 110 à 150 gammas pour mille dans le plasma et 130 à 200 gammas pour mille dans les globules ; ils ont donc conclu que la différence était minime, entre le taux du cuivre sérique et celui du cuivre globulaire.

Ces travaux ont été repris depuis, et précisés grâce au Cu 64 : les auteurs admettent généralement que le taux du cuivre est à peu près semblable dans les globules et dans le sérum.

### Le cuivre globulaire.

Dans les hématies, le cuivre est combiné à une protéine, l'HEMOCUPREINE., de poids moléculaire 34 000 avec 0,34% de cuivre. La fraction protidique de ce composé serait formée par une albumine. L'hémocupréine fut isolée en 1938 par MANN et KEILIN.

Une hématie contient environ 75.10 de cuivre pour cent, les leucocytes et les plaquettes en contiennent à peu près le quart.

### Le cuivre plasmatique.

Dans le sérum, 90% du cuivre se trouve inclus dans la COERULOPLASMEINE, complexe cupro-protidique bleu foncé isolé en 1948 par HOLMBERG et LAURELL. La protéine est ici une alpha-2 globuline.

La coeruloplasmine est une molécule de poids moléculaire 151 000, contenant 0,35% de cuivre. (Le cuivre fait partie intégrante de la molé-



cule ; chaque molécule contient 8 atomes de cuivre).

Le plasma normal en contient environ 30 mg%, et la caeruloplasmine représente environ 0,5% des protéides plasmatiques.

Le spectre d'absorption est comparable à celui des hémocyanines.

Le cuivre est responsable de la couleur bleu foncé de la protéine : cette couleur bleue disparaîtrait sous l'effet d'agents réducteurs (acide ascorbique par exemple) pour reparaitre en présence d'oxygène.

La caeruloplasmine se comporte comme une OXYDASE VRAIE : la capacité d'oxydation du sérum est proportionnelle au taux de cuprémie et de caeruloplasminémie. Cette caeruloplasmine serait la principale cuproprotéine du sérum humain, et, selon HOLMBERG, la principale forme de transport du cuivre dans l'organisme ; cependant, cette protéine n'a pas la propriété de se surcharger en cuivre ou de libérer ce cation : elle est entièrement liée au cuivre à l'état normal.

En effet, si l'on injecte du cuivre par voie intra-veineuse à un chien par exemple, on n'obtient aucune modification du taux de la caeruloplasmine. Quelles sont donc les formes de transport du cuivre apporté en surcharge par l'injection intra-veineuse (ou absorbé par le tube digestif en cas de surcharge alimentaire, dans une autre série d'expériences) ?

La SIDEROPHILINE, forme habituelle de transport du fer, jouerait dans ce cas un rôle important. En effet, bien que les quantités de fer et de cuivre sériques soient assez voisines, il existe une différence de liaison fondamentale : le fer de la sidérophiline, contrairement au cuivre de la caeruloplasmine, est presque totalement libérable, un tiers seulement restant fixé à la molécule. Selon WINTROBE, CARTWRIGHT et GUBLER (1953), la sidérophiline non saturée par le fer serait capable de se lier au cuivre, sans pour cela diminuer à ce moment sa concentration en fer, et jouerait ainsi le rôle de transporteur de cuivre.

D'autres protéines pourraient aussi fixer faiblement, dans certaines conditions, une partie de l'excédent de cuivre, formant ainsi des complexes Cu-Protéine, peu étroitement liés, non spécifiques, mais jouant un rôle de transport.

Selon MACHEBOEUF et VISCONTINI, la liaison entre Cu et Protéines se ferait par l'intermédiaire du tryptophane (vue l'affinité toute spéciale de cet acide aminé pour le cuivre).

De nombreuses recherches sur la liaison du cuivre avec les protéines sériques à l'aide du Cu 64 faites ces dernières années, ont confirmé ces données (Institut Pasteur, Michel Macheboeuf, Paris 1951 - Université de Marburg, 1955 - Gubler, Brown et Smith, Université d'Utah, Salt Lake City, 1953).



Résultats des dosages du cuivre sérique chez l'animal :

Voici, par exemple, les taux moyens de la cuprémie en gammas de cuivre pour cent centimètres cubes de sang total, communiqués par l'équipe de recherche T.E. de Riom, et dosés par la méthode spectrographique.

| Vache   | Mouton  | Porc      |           | Cobaye | Volaille |
|---------|---------|-----------|-----------|--------|----------|
|         |         | adulte    | jeune     |        |          |
| 93 - 85 | 81 - 91 | 164 - 189 | 140 - 176 | 45     | 23 - 28  |

Selon ces auteurs, les variations constatées lors des différents dosages se sont révélées aussi importantes chez l'animal que chez l'homme ; des taux inférieurs de moitié ont pu être relevés.

D'après ces études, le taux du cuivre semble se maintenir constant d'un jour à l'autre. Il n'a pas été noté de variations importantes de la cuprémie après les repas, le jeûne, ni après l'effort.

Cependant, d'autres auteurs (NIELSEN, LAHEY, CARTWRIGHT, WINTROBE, 1953, ainsi que SAVAGNONE, Université de Palerme, Sicile, 1953), signalent des variations nycthémérales du taux du cuivre sanguin chez l'homme avec :

- augmentation dans la matinée,
- diminution dans l'après-midi,
- abaissement net le soir.

D'autre part, DICK signale dans sa thèse doctorale (1954, Université de Melbourne) une élévation prononcée du taux de la cuprémie chez le mouton, après l'effort.

Les variations les plus nettes résultent finalement de trois facteurs :

- le régime,
- la maladie,
- et un état physiologique, la gestation.

a) Variations avec le régime :

1. Des régimes déficients en cuivre s'accompagnent d'hypocuprémie. Ainsi, chez le rat, le chien, le porc anémiés expérimentalement, et chez le mouton se nourrissant d'une herbe pauvre en cuivre, les taux de la cuprémie peuvent s'abaisser à 10 ou 20 gammas pour 100 cm<sup>3</sup> de sang



(BAXTER et VAN WYCK en 1953, ainsi que GUBLER, LAHEY et CARTWRIGHT à Salt Lake City University of Utah en 1952 au cours d'expériences sur le rat albinos mâle adulte précisèrent ces faits, déjà établis dès 1936 par SCHULTZE et ELVEHJEM).

2. Par contre, un supplément de cuivre dans le régime ne modifie pas sensiblement la cuprémie (nous avons déjà noté ce fait à propos de la coeruloplasmine). Seules, de très fortes doses de cuivre, absorbées ou injectées, peuvent entraîner une élévation de la cuprémie, qui reste d'ailleurs transitoire (CUNNINGHAM, New-Zeeland, 1946). Au contraire, au cours de ces expériences de surcharge, le cuivre hépatique s'élève dans des proportions importantes (le foie étant, comme nous le verrons plus loin, le principal organe de stockage du cuivre dans l'organisme).

3. Il existerait un antagonisme cuivre-molybdène (CUNNINGHAM, 1950). En effet, selon cet auteur, l'addition de Mo à la ration d'animaux paissant sur des pâturages riches en cuivre provoque une hypocuprémie. Cependant, selon DICK (1953), le Mo peut augmenter la cuprémie si le régime contient une quantité suffisante de soufre minéral.

On a aussi étudié l'influence d'autres oligo-éléments sur le métabolisme du cuivre, et en particulier l'action du manganèse (Salt Lake City University, Utah, 1955). En faisant varier les taux de cuivre et de manganèse dans le régime, les auteurs, après de nombreuses expériences réalisées chez les rats, suggèrent que le Mn agit soit en formant un complexe avec le cuivre qui rendrait ce dernier inutilisable, soit en bloquant de quelque façon l'action des enzymes contenant du cuivre.

#### b) Variations avec la maladie :

1. Les syndrômes inflammatoires : on constate fréquemment des hypercuprémies dans les infections aiguës ou chroniques ; cependant, lorsque l'infection se prolonge, si une anémie s'installe, on peut voir le taux de cuivre s'abaisser. Si ces faits étaient prévisibles (on se souvient que le cuivre fut employé depuis la plus haute antiquité en thérapeutique anti-inflammatoire), le mécanisme de ces variations humorales au cours des infections demeure, quant à lui, assez mal connu.

La création expérimentale de syndrômes inflammatoires chez le rat (GUBLER, LAHEY, CARTWRIGHT, WINTROBE, 1953), entraîne une absorption accrue de cuivre au niveau intestinal, pour satisfaire à l'élaboration d'une plus grande quantité de coeruloplasmine, et pour aider à la formation d'anti-corps.



2. Les anémies cupriprives s'accompagnent d'une hypocuprémie allant de 30 à 50 pour cent.

c) Variations physiologiques :

En dehors des variations nycthémérales qui, nous l'avons vu, sont contestées, la gestation par contre joue un rôle très important. Plusieurs études ont permis de relever dans ce cas une élévation de la cuprémie, n'affectant que le plasma. Les valeurs reviennent à la normale quelques semaines après la mise-bas chez le bétail. Toutefois, le mouton fait encore exception car il ne présente dans ce cas aucune variation. (BECK, Australie, 1951).

Nous reviendrons sur ces notions à propos de l'étude du cuivre chez la femme gestante.



## II. Le cuivre dans les tissus.

### Taux du cuivre dans les différents organes :

A. Dans toutes les espèces animales, le foie est l'organe le plus riche en cuivre (hépatocupréine).

Cependant, le taux du cuivre hépatique dépend de certains facteurs, et nous étudierons ses variations :

- selon l'espèce et selon l'âge,
- selon le régime,
- selon les conditions pathologiques.

#### a) Variations selon l'espèce et l'âge.

Un tableau très précis fut établi par CUNNINGHAM (New-Zeeland, 1946). Nous en reproduisons ici une partie. Le cuivre y est exprimé en p.p.m. de poids sec et dosé dans le FOIE.

| Espèces | Adulte | Nouveau-né          | Foetus |
|---------|--------|---------------------|--------|
| BOEUF   | 77     | 470                 | 262,8  |
| MOUTON  | 236,6  |                     |        |
| PORC    | 41,3   | 232,8               |        |
| CHEVAL  | 14,8   |                     |        |
| CHIEN   |        | 98,2<br>(à 9 jours) |        |

Nous voyons donc que pendant la période foetale, le foie contient une réserve importante de cuivre.

Chez le jeune, il persiste une concentration encore élevée de cuivre hépatique pour compenser le déficit dû à l'alimentation lactée.

Puis le taux du cuivre s'abaisse progressivement au cours de la croissance, pour se stabiliser chez l'adulte.

#### b) Variations selon le régime.

- Le taux de cuivre hépatique est fortement influencé par le régime et en particulier par le taux de Mo (qui agit comme antagoniste).



- Chez le nouveau-né, issu d'une mère carencée, les stocks de cuivre hépatique seraient insignifiants (COX et MUELLER, 1937) : diminution dans le rapport de 3 à 1.

- Le placenta, semble-t-il, laisse passer une quantité importante de cuivre.

- Après la naissance, en cas de carence persistante du nouveau-né, il suffit d'un régime riche en cuivre pour que les réserves hépatiques en cet oligo-élément redeviennent normales. En particulier chez l'agneau, l'augmentation est régulière, à peu près proportionnelle à la quantité de cuivre absorbée.

#### c) Variations selon la maladie.

Au niveau hépatique comme dans le sang, les états pathologiques entraîneront des perturbations notables du taux du cuivre, en particulier en cas d'anémie, de tuberculose, ou de tumeurs.

B. En dehors du foie, d'autres organes sont riches en cuivre, la rate, le rein, en particulier, sont des organes de réserve importants pendant la période foetale.

Durant la vie extra-utérine, le coeur et les reins sont particulièrement riches en cuivre (on peut se reporter au tableau de CUNNINGHAM, New-Zeeland, 1946).

La recherche du cuivre a été faite, en dehors des organes, dans différents tissus pigmentés, cheveux et ongles des sujets jeunes ou âgés. D'après SARATA, la quantité de ce métal est très diminuée dans les cheveux des vieillards.

L'oeil contient aussi une proportion relativement importante de cuivre ; les taux cupriques des principaux tissus et des humeurs de l'oeil vont en décroissant de l'iris, la choroïde, l'humeur vitrée, l'humeur aqueuse, à la rétine (des taux de 50 p.p.m. et de 13 p.p.m. ont été relevés pour l'iris et la choroïde chez le mouton).

Les taches mongoliennes, souvent rencontrées chez l'enfant contiennent aussi, d'après NASARAKI, une grande quantité de cuivre. En fait, il semblerait qu'on puisse établir un rapport entre la pigmentation des tissus et le taux du cuivre dans ces mêmes tissus : l'appauvrissement ou l'enrichissement en cuivre dans les cheveux ou dans les taches mongoliennes, par exemple, dépendrait probablement de la production en mélanine.



En ce qui concerne le cerveau, organe relativement riche en cuivre, PINGER a démontré la répartition égale du fer et du cuivre dans la substance grise, le cortex cérébral et le cortex cérébelleux ; par contre, le corps strié contient une grande quantité de fer et de manganèse, mais on n'y trouve pas de cuivre.



### III. Le cuivre dans le lait.

La quantité de cuivre indispensable aux besoins hématopoïétiques et métaboliques du jeune animal lui est fournie par son stock hépatique important à la naissance et faiblement par le lait, qui constitue son alimentation principale.

La concentration en cuivre du lait est très variable : elle dépend de nombreux facteurs, et d'abord de l'espèce.

Le lait de rat est le plus riche : 7 mg par litre environ, dans les échantillons étudiés par COX et MUELLER (1937), contre 600 gammas par litre chez la vache (il semblerait, en fait, que le taux du cuivre dans le lait soit d'autant plus élevé que la vie de l'animal est plus courte).

Dans toutes les espèces, le colostrum est infiniment plus riche en tous les oligo-éléments, et plus particulièrement en Cu, que le lait lui-même. Dans le lait, le cuivre diminue au fur et à mesure de la lactation, pour se stabiliser au bout de deux mois environ. Ainsi, le lait de jument, qui en contient 350 gammas par litre pendant les premières semaines, n'en contient plus que 170 gammas par litre après 6 semaines (BECK, Australie, 1955).

L'addition de cuivre au régime ne modifie pas sensiblement la teneur du lait (LIEBSCHER, Berlin, 1937). Il en est de même d'ailleurs pour le Zn, le Mn, l'Iode, et le Co. Par contre, un régime cuprique déficient entraîne une diminution importante de la teneur en cuivre du lait (BECK, 1941). BECK a aussi montré que les animaux paissant sur des pâturages très pauvres en Cu donnent un lait extrêmement pauvre en cet élément, la concentration dans le sang étant moins affectée.

#### Variations saisonnières.

Pour le lait de vache, pendant la période chaude de Mars à Novembre, la teneur en Cu est supérieure (0,17 mg/litre à 0,50) à celle de la période de Novembre à Mars (0,09 à 0,21 mg/litre).

Le lait de chèvre subit les mêmes variations : de Juillet à Novembre 0,15 à 0,36 mg par litre ; pendant la période d'hiver, le chiffre est légèrement plus bas (0,10 à 0,24 mg/litre), et de Mars à Juillet, 0,18 à 0,30 mg/litre.

Dans le lait d'ânesse, le taux reste toute l'année au niveau de



0,14 à 0,26 mg/litre.

Ces variations sont imputables à l'alimentation, car en été, (l'herbe), les jeunes pousses et les feuilles contiennent plus de cuivre que les autres portions de la plante. Ce cuivre peut être éliminé par le lait, d'où sa plus grande teneur en cuivre, l'été.



#### IV. Le métabolisme du cuivre.

Moins bien connu que le métabolisme du fer, le métabolisme du cuivre chez l'animal en diffère apparemment à plus d'un point de vue.

##### A - Absorption.

Selon VAN REVESTTEYN, 25% environ du cuivre ingéré est absorbé par l'organisme, chez le sujet normal.

Des études sur le chien prouvent l'absorption haute du cuivre dans le jéjunum, c'est-à-dire dans la partie intestinale à pH bas : elle dépend donc de l'acidité du suc gastrique, et de la présence de certaines substances alimentaires, du calcium en particulier. (SACKS, LEVINE, HILL et HUGUES, 1943).

DICK (1953 et 1954), mit en évidence l'influence de l'alimentation sur l'assimilation et l'excrétion du cuivre : l'addition au régime de quantités importantes de  $\text{Co}_3 \text{Ca}$  et  $\text{So}_4 \text{Fe}$ , diminue l'absorption du cuivre par modification du pH intestinal (phénomène non observé lors de l'utilisation de composés non basiques).

Nous avons déjà parlé de l'antagonisme cuivre-molybdène : quelle en est la cause ? Le Mo diminue-t-il l'absorption, ou augmente-t-il l'excrétion du cuivre ? Ceci, à notre connaissance, n'a pas été élucidé.

D'autres éléments, comme le nickel et le fer, seraient sans action sur l'accumulation du cuivre dans l'organisme ; par contre, certains auteurs laissent supposer une relation entre le zinc et le cuivre. Des proportions élevées de Zn provoquent chez le rat une anémie, corrigée seulement par l'administration de cuivre. Citons aussi les expériences pratiquées à l'Université d'Utah, Salt Lake City (1955) sur des rats, prouvant l'influence du manganèse sur le métabolisme du cuivre.

Ces exemples laissent entrevoir, entre les éléments minéraux des interrelations et des antagonismes possibles, loin d'être tous étudiés.

Par ailleurs, chez l'animal, les troubles se corrigent plus facilement par le Cu des plantes que par ingestion de sels de cuivre. Les sels employés sont d'ailleurs inégalement utilisés par l'organisme. On a préconisé l'emploi des oxydes, des hydroxydes, des glutamates, des glycérophosphates, des aspartates, des citrates, des nucléïnates, des pyrophosphates et, avec un moindre rendement semble-t-il, des porphyrines



cupriques.

Des études faites avec le cuivre radioactif révèlent en outre des différences d'absorption selon la race (SCHUBERT et coll.).

En résumé, le mécanisme d'absorption du cuivre est encore mal connu et on ne sait pas, en particulier, s'il est réglé par le degré de saturation de l'organisme, comme dans le cas du fer.

#### B - Excrétion.

L'élimination du cuivre est importante (contrairement à celle du fer). Chez l'homme comme chez l'animal, la plus grande partie du Cu 64 administré per os s'excrète dans les fécès (MAHONEY, GUBLER, Utah, 1955).

Dans les conditions physiologiques, la voie d'élimination est donc surtout bilio-intestinale, et on ne retrouve parallèlement qu'une quantité très minime de cuivre dans l'excrétion urinaire.

En cas d'injection intra-veineuse, par contre, les expériences de COMAR (1950) sur le bétail, et de SCHUBERT et REIZLER (1948), chez le chien, ont montré que le cuivre injecté s'élimine à parties égales par l'urine et les selles. D'autre part, on a constaté que l'élimination totale du cuivre était moins prononcée en cas d'injection intra-veineuse que dans le cas d'une administration per os : respectivement 6% dans les 6 premiers jours, contre 78% dans le second cas. Il en résulte la notion d'une plus longue efficacité thérapeutique du cuivre injecté. En effet, 200 mg de  $\text{So}_4 \text{Cu}$  injecté protègent les bovidés contre une déficience cuprique. pendant cinq mois, de même, la simple injection de 20 mg de ce même sel de cuivre chez la brebis, pendant la grossesse, suffit pour prévenir l'ataxie des agneaux.



## V. Métabolismes comparés du Fer et du Cuivre.

Dans ce chapitre, nous donnerons tout d'abord un aperçu du métabolisme du fer, puis nous envisagerons la destinée du cuivre dans l'organisme et la formation des complexes cupro-protidiques. Enfin, nous exposerons la possibilité d'une inter-relation entre fer et cuivre.

### 1 - Rappels sur le métabolisme du fer.

Le fer est très répandu dans la nature et constitue environ 4,5% de la lithosphère (on le trouve dans les rocs, les plantes et les animaux).

Il convient en premier lieu de se souvenir que la propriété chimique la plus importante du fer est son oxydabilité : en effet, le fer chimiquement pur, obtenu par réduction de ses oxydes, est capable de s'enflammer au contact de l'air pour donner l'oxyde ferrique  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  ( $\text{Fe}^{+++}$ ) ; d'autre part, il existe un oxyde ferreux  $\text{FeO}$  ( $\text{Fe}^{++}$ ), le passage réversible d'un oxyde à l'autre jouant un rôle fondamental dans les phénomènes d'oxydoréduction.

Chez l'homme moyen (70 kgs), il y a 3,1 à 3,3 g de fer sous forme surtout de combinaisons organiques complexes (hémoglobine et cytochrome).

Le support organique du fer est la protoporphyrine ; unie au fer, on obtient des dérivés tels que l'hème et l'hématine.

Dans l'Hb, l'hème est unie à la ~~glo~~globine (histonine), et dans les cytochromes, l'hème est unie à une protéine de poids moléculaire quatre fois plus faible, par l'intermédiaire de deux groupes cystéiniques. Mais, dans l'hémoglobine, l'hème fixe de façon labile une molécule d' $\text{O}_2$  pour donner l'oxyhémoglobine,  $\text{HbO}_2$ , sans que le fer ( $\text{Fe}^{++}$ ) devienne ferrique ( $\text{Fe}^{+++}$ ), ni ne subisse lui-même d'oxydation. Au contraire, dans les cytochromes, on assiste à une oxydation réversible de l'atome  $\text{Fe}^{++}$  qui devient  $\text{Fe}^{+++}$ . Chacun des cytochromes existe donc à l'état réduit et à l'état oxydé :  $\text{Cy (a,b,c)}^{++}$  ou  $\text{Cy}^{+++}$ .

### 2 - Le Cuivre.

Comme le fer, il existe sous deux états : sels cuivreux et sels cuivriques ( $\text{Cu}$  et  $\text{Cu}^{++}$ ), ces sels étant facilement oxydés et réduits, selon des mécanismes assez analogues à ceux mis en jeu dans les cas des sels de fer.

Dans le sang de certains invertébrés inférieurs (mollusques arthropodes), on a décelé une substance pigmentaire bleue cuprique, l'hémocya-



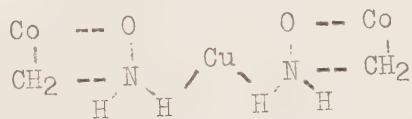
nine, qui a un rôle analogue à celui des hémoglobines des vertébrés, c'est-à-dire, transportant l'oxygène auquel elle est liée sans que le sel de Cu devienne  $\text{Cu}^{++}$ . A chaque atome de cuivre correspond la fixation non d'une molécule mais d'un atome d'oxygène.

Le cuivre rentre aussi dans la composition de certains enzymes d'oxydation où il participe aux échanges électroniques par ses variations de valence (par exemple dans l'acide ascorbique-oxydase).

Les oxydases à base de cuivre peuvent coexister avec les pigments respiratoires ferrugineux. BALL et MEYERHOFF, 1940, ont décrit dans le sang des animaux marins, à côté de l'hémocyanine, des cytochrômoxydases ferrugineuses, comme chez les vertébrés supérieurs. Dès maintenant, nous pouvons émettre l'hypothèse selon laquelle la présence simultanée du fer et du cuivre pourrait être indispensable aux processus normaux d'oxydation ; en effet, la formation de l'Hb ou celle des cytochromes ne peut se faire chez l'homme sans apport de cuivre, et inversement, BALL et MEYERHOFF ont montré que la synthèse de l'hémocyanine ne peut avoir lieu sans traces de fer. Nous reviendrons sur ces notions dans la conclusion de ce chapitre.

Nous allons maintenant essayer de voir sous quelles formes, en dehors des enzymes d'oxydation, on peut retrouver le cuivre dans l'organisme. Et dès l'abord, nous pouvons dire qu'on l'y trouve presque entièrement sous forme de complexes cupro-protidiques.

a) On connaît de nombreux dérivés cupriques des acides aminés, des polypeptides, et des protéines, qui peuvent servir de modèles à une représentation schématique de ces complexes, dont le plus simple est le glycolate de cuivre :



Cette formule, établie par LEY, rendrait assez bien compte de la faible constante de dissociation électrique de ce sel.

b) On sait depuis longtemps que le cuivre se combine avec les albumines (HECHT, et EICHOLTZ, 1929, expériences sur les souris blanches).

Il s'unit également au groupe sulfhydrylique de la cystéine, du glutathion, et de l'acide thioglycolique, notamment dans les intoxications cupriques (VOEGTLIN) ; or, le rôle de ces amino-acides soufrés dans les



phénomènes d'oxydo-réduction est bien connu.

Dans l'organisme, la plus grande quantité de cuivre se trouve déposée sous forme d'albuminates.

Dans le foie, les albumines contiennent tout le cuivre, tandis que la globuline contient beaucoup de fer (GRUZEMSKA et RCUSSEL, 1935).

c) Cuivre et hémoglobine.

In vitro, la solution d'Hb mise en présence de sulfate de cuivre donne un précipité, le cuprohémol.

In vivo, bien qu'il y ait du cuivre dans les globules rouges, il n'y a pas de cupro-hémol.

L'HbO<sub>2</sub> du cheval et du rat contient 1,3 à 3,4 mg de cuivre (selon ELVEJEM, STEENBOCK et HART).

Les ions Cu<sup>++</sup> transforment l'Hb en méthémoglobine ; celle-ci est plus stable vis-à-vis des sels Cu<sup>++</sup> que Hb ou HbO<sub>2</sub>, mais est également dénaturée par un excès (RAWLINSON).

BOYDEN et POTTER (1938), ont montré que la combinaison Hb-Cu dans le plasma est facilement dissociée par les acides sulfuriques et chlorhydrique.

Le cuivre se combine aussi avec les acides gras (la couleur des cheveux des ouvriers travaillant ce métal en serait le témoin). Les composés lipoïdiques du sérum renferment aussi du cuivre : 0,12 à 0,21 mg%, selon YOSHIKAWA (1939).

D'après MANN et KEILIN (1938), comme nous l'avons déjà vu, le cuivre se trouve lié sous forme d'hémocupréine dans le sang, et d'hépatocupréine dans le foie. Ses dérivés se rattachent aux albumines et sont proches l'un de l'autre :

- l'hémocupréine est bleue, elle correspond dans le sang à 0,06 gammas de Cu/litre, et contient (Azote : 14,35%  
(Soufre : 1,12%  
(Cuivre : 0,34%
- l'hépatocupréine est incolore.

Le reste du cuivre est lié à d'autres corps protéiques dans les muscles lisses, le coeur, etc. Ces composés ne s'unissent pas avec l'oxyde de carbone, n'ont aucune propriété peroxydasique, catalasique, polyphénoloxidasique, ou cytochrômoxidasique ; leur rôle est encore inconnu.



d) Cuivre et colorants.

Dans la chlorophylle, le Mg est lié aux quatre atomes d'azote des noyaux pyrroliques, mais il est possible de lui substituer Cu (Expériences de François APPERT sur le cuivrage des légumes).

Les oiseaux Turaco possèdent, d'après CHURCH, un colorant sanguin apparenté à l'Hb. Cette Turacine, sel de cuivre de l'ester méthylique de l'uroporphyrine, correspond aux produits préparés par FISCHER et HILGER, à partir du dérivé porphyrinique urinaire. On lui a prêté un rôle physiologique au cours des désintoxications, et on a même considéré le cuivre comme un agent de traitement dans les cas de porphyrinurie ; cependant, on n'a pas trouvé de dérivé cuprique analogue dans le sang des porphyrinuriques chez lesquels le taux du cuivre est d'ailleurs normal (OSCHIMA).

e) Cuivre et ferments.

In vitro, Cu retarde l'action de l'amylase (TEMMING et GROLL) et de la lipase, entrave la catalase sanguine (HANDELL et SEGALL) et la peptonisation de l'édésine (PINCUSOHN et TSUCHIHASHI).

Le cuivre freine la fermentation de la levure à une concentration de 2/10 000.

Son action sur la glycolyse, déterminée sur des coupes de tissus, est faible (JOWETT et BROOKS), mais, au taux de 1/100 000° à 1/10 000 ° il augmente le chiffre de la glycémie chez la grenouille (LIPMANN). D'autre part, d'après des expériences faites à l'Université de Barcelone, en 1953, par Francisco PONZ, le cuivre pourrait aussi inhiber l'absorption intestinale du glucose. Pour d'autres auteurs, il inhiberait la glycolyse (WAGNER, JAUREGG, RZEPRA et BAINER). Enfin, selon PERFENTZEF et SOKOLOFF, il entraverait la formation de l'acide lactique.

On attribue également au cuivre un rôle physiologique sur l'action des vitamines B<sub>1</sub> et C.

En conclusion, nous retiendrons, avec ELVEJHEM (1935), l'importance des relations entre le fer et le cuivre, en particulier la participation du cuivre à la synthèse de l'hémoglobine.

En accord avec ce fait, SCHULTZE (1940) et MARSTON (1952), trouvent une augmentation considérable de fer non utilisé dans les tissus d'anémie cupriprive.

Mêmes conclusions de GUBLER et de ses collaborateurs : chez le porc



(1952), ils apportent la preuve de l'absorption augmentée du fer au niveau intestinal, grâce au cuivre ; émettant alors l'hypothèse d'un effet catalytique du cuivre sur le  $\text{Fe}^{++}$ , c'est-à-dire que le cuivre rendrait le fer actif dans tous les métabolismes où il intervient.

Au niveau enzymatique, le cuivre maintiendrait l'activité de la cytochrômoxydase et de la catalase, qui contiennent du fer. En effet, l'action enzymatique de la cytochrômoxydase d'une part, au niveau du foie, du coeur et de la moelle osseuse, et de la catalase d'autre part, au niveau des érythrocytes, du foie, des reins, - est considérablement réduite lors d'une carence en cuivre.



## VI. Etude de la carence en cuivre chez l'animal.

Le cuivre doit être considéré comme indispensable au développement de la plupart des espèces:

Sa carence provoquera une anémie, des lésions au niveau du myocarde, du système nerveux, du tissu osseux, de la peau et de l'intestin.

D'une façon générale, les troubles observés sont d'autant plus graves que l'animal est plus jeune et ses réserves vite épuisées. Ces troubles varient d'intensité avec l'espèce considérée, et dépendent de la rapidité avec laquelle la carence s'est installée.

Chez le mouton, les premiers symptômes observés sont : l'ataxie, un défaut de coloration de la laine et des troubles de la kératinisation.

Les porcelets et les veaux présentent rarement de l'ataxie, le chien et le rat très rarement.

Des carences en Cu sur plusieurs générations de rats entraînent toujours des lésions nerveuses ou des anomalies au niveau de la moelle épinière (FRICK et LAMPL, 1953).

Nous devons signaler en outre chez le foetus bovin les besoins primordiaux du tissu myélinique en cuivre.

### A - l'Anémie cupriprive.

Elle se manifeste aussi bien chez le rat, le lapin, le poulet, le porc et le chien que chez l'homme.

On assiste d'abord à une chute progressive du Cu dans le sang. Après épuisement des stocks du foie et des différents organes, l'anémie survient.

Une cuprémie inférieure à 20 gammas pour 100 cc chez le porc, et inférieure à 10 à 20 gammas pour 100 cc chez le mouton, correspond à une anémie irréversible. Dans ces anémies, apparemment ferriprives, seul l'apport de Cu entraîne une régénération hématique (LAHEY, GUBLER, CARTWRIGHT, WINTROBE, 1951 et 1952 - HOLMBERG et LAURELL, 1951 - MARSTON, LEE et Mc DONALD, 1948).

Il n'y a pas de caractéristiques très spécifiques de l'anémie cupriprive. Chez le rat (SMITH et MEDLICOTT, 1944), le lapin (mêmes travaux), le porc, elle est microcytaire et hypochrôme, comme l'anémie ferriprive. Chez le porc, elle s'accompagne d'une hyperplasie normoblastique.



Elle est :

- macrocytaire et hypochrôme chez les bovins (BENNETTS, 1954),
- microcytaire et hypochrôme chez les agneaux (CUNNINGHAM, 1946),
- macrocytaire chez les moutons (MARSTON, 1948),
- normocytaire et normochrome chez le chien.

Dans la moelle osseuse, on constate une déficience dans la maturation des érythrocytes, une diminution des normoblastes et une augmentation du nombre des formes immatures.

#### B - Effets de la carence en cuivre sur le myocarde des bovidés.

Une carence sévère s'accompagne chez les bovins d'une fibrose du myocarde évoluant rapidement vers la mort.

Cette localisation a été particulièrement étudiée en Australie où sévit la maladie. On avait pensé l'imputer aux agents toxiques ou à une infection : l'origine est simplement une carence en cuivre, la thérapeutique cuprique donnant une amélioration (expériences formelles de BENNETTS et de ses collègues, 1939 à 1948). De plus, le cuivre sanguin s'abaisse à 10 gammas pour 100 cc, et le cuivre hépatique atteint 2 p.p.m. Après contrôle, la teneur en cuivre des pâturages s'est révélée souvent inférieure à 3 p.p.m., ceci dans les régions les plus pauvres en cuivre du monde : Est de l'Australie, Nouvelle-Zélande, Floride.

L'espèce bovine est la plus sensible. En effet, on n'a pu reproduire expérimentalement ce syndrome ni chez le porc, ni chez le chien, ni chez les brebis ou les chevaux.

Les études anatomo-pathologiques révèlent qu'il s'agit bien d'une atteinte cardiaque avec fibrose, et l'anémie n'est que secondaire. On peut supposer une atteinte, plus importante chez les bovidés, du système enzymatique, en particulier au niveau des cytochromes, abondants dans le muscle cardiaque.

#### C - Cuivre et système nerveux.

Les troubles de la coordination chez les agneaux et les brebis de certaines régions (MARSTON, 1952 et RUSSEL, 1944) reçurent le nom générique "d'ataxie enzootique". Très répandue dans le monde entier, cette maladie se retrouve chez les poulets, les chevreaux et les veaux. Pendant de nombreuses années, l'étiologie en est restée obscure jusqu'à ce que BENNETTS et CHAPMAN (Australie, 1937) l'identifient comme la conséquence d'une carence cuprique. Les animaux présentaient tous une cuprémie basse



avec anémie et altération de la laine. Le sol et les pâturages se trouvaient probablement carencés ou peut-être contenaient-ils une importante quantité de molybdène.

Une mesure prophylactique intervint en Angleterre, l'apport de  $\text{SO}_4\text{Cu}$  aux pâturages renfermant de faibles quantités de Cu, même de l'ordre de 7 à 15 p.p.m.

Une déficience cuprique se manifeste chez toutes les brebis ayant des agneaux ataxiques, mais toute hypocuprémie ne s'accompagne pas d'ataxie. Peut-être existe-t-il dans certains pâturages un facteur encore inconnu, antidote de la carence en cuivre ?

L'ataxie la plus courante affecte immédiatement les nouveaux-nés, parfois seulement après quelques semaines ou même quelques mois. C'est une paralysie de type spasmodique, avec incoordination des mouvements, contracture des muscles abdominaux, et tremblements. Au stade avancé apparaît une paralysie avec balancement de l'arrière-train ; puis l'animal ne peut plus se lever et meurt rapidement. Des complications pulmonaires surgissent souvent si la maladie évolue lentement.

Du point de vue anatomo-pathologique, on assiste à une démyélinisation diffuse et symétrique du système nerveux central (perturbations irréversibles pouvant se manifester six semaines avant la naissance).

La relation entre la déficience en cuivre et les atteintes du système nerveux central doit avoir pour origine les altérations des oxydases cupriques entraînant des modifications de l'oxydoréduction. En outre, à ces lésions s'associent des troubles vasculaires ou circulatoires. (SCULTZE, 1941).

#### D - Carence en cuivre et tissu osseux.

Chez le mouton, la carence en cuivre entraîne des troubles osseux, avec parfois fractures spontanées. Des troupeaux entiers de Floride furent sauvés par l'administration de Cu, évitant le rachitisme, l'ostéoporose, et les oedèmes des articulations.

D'après CUNNINGHAM (Baltimore, 1950), les fractures surviennent toujours secondairement à l'ostéoporose. Les examens histologiques, les dosages de calcium ou de phosphore sanguin n'apportent aucune lumière au biologiste.

Chez le jeune chien, la déficience en Cu provoque des anomalies de la zone périostique, des travées osseuses et l'élargissement des



épiphyses (BAXTER et coll., 1953). Les taux de Ca, de P et de vitamine D sont normaux, et les lésions osseuses ne ressemblent pas à celles du rachitisme. L'anémie corrélative ne peut expliquer ces anomalies, une anémie ferriprive n'entraînant aucune altération du système osseux. Il semble donc que le cuivre exerce une action sur le métabolisme des ostéoblastes.

#### E - Carence en cuivre au niveau des phanères.

Elle provoque des troubles de la pigmentation chez presque tous les animaux : rat, lapin, chat, chien, mouton, chèvre, - le porc excepté.

L'alopécie et les dermatoses, d'après SMITH et ELLIS, seraient un indice plus sensible de la déficience en cuivre que l'anémie, chez le lapin.

De même, chez les ovins, la première manifestation pathologique est la dépigmentation de la laine, bien avant l'apparition des troubles généraux. Mais on ne peut pas attribuer tous les troubles de la pigmentation à une carence en cuivre ; la carence en acide para-amino-benzoïque, en acide pantothénique ou en acide glutamique, et même la carence en zinc, peuvent susciter des troubles analogues. D'autre part, il peut s'agir d'un excès de molybdène, par exemple, inhibant l'action du Cu.

L'action catalytique du cuivre sur les polyphénoloxydases, provoquant la formation de mélanine à partir de la tyrosine, expliquerait les troubles de la pigmentation constatés chez ces animaux.

Parallèlement à ces troubles, il existe des anomalies dans la croissance des poils, et ceci pour la majorité des espèces.

"Nous avons pu constater dans la vallée du Rhône une diminution générale du système pileux chez le bétail, et une dépigmentation à la périphérie de l'oeil, créant des sortes de "lunettes", caractéristiques de la carence en cuivre", écrit R. Y. MAUVERMAY en 1958.

Chez le mouton, on remarque une modification dans la texture de la laine. Cette maladie de la "laine d'acier", très répandue en Australie, a donné lieu il y a quelques années à des travaux importants exigés par les conséquences économiques désastreuses qu'entraînait cette maladie : la laine devenait pratiquement inutilisable. De très faibles quantités de Cu administrées aux animaux, ou l'apport de Cu aux pâturages, ont arrêté le processus de dépigmentation.

La carence en cuivre provoquerait des modifications lors de l'oxyda-



tion des groupements soufrés : SH en groupements disulfurés, S-S (MARSTON, 1946). Il est certain que la transformation de la prékératine en kératine au niveau des follicules pileux nécessite une certaine quantité de cuivre. Ici encore, on peut incriminer une perturbation des systèmes enzymatiques agissant au niveau des groupements thiols.

#### F - Carence en cuivre au niveau intestinal.

Elle se manifeste fréquemment par de la diarrhée, parfois très grave, et dominant le tableau clinique (Hollande, Nouvelle-Zélande, 1938, 1946). Les bovins sont les plus sensibles.

Ce syndrome apparaît sur des troupeaux paissant sur des sols tourbeux, pauvres en cuivre. Comme dans toutes les déficiences en cuivre, on constate une baisse de la cuprémie et du Cu tissulaire, avec anémie. L'absorption, l'injection ou plus scientifiquement l'épandage du cuivre, suffisent à entraîner la guérison.

CUNNINGHAM attire notre attention sur des diarrhées semblables provoquées par le Molybdène, en particulier dans le cas des sols tourbeux contenant un excès de molybdène, sans carence en cuivre. BENNETS confirme ces résultats, après étude sur des troupeaux de l'Ouest-Australie (1941).

Le zinc serait susceptible d'aggraver cette hypocuprémie.

#### G - Besoins en cuivre de l'animal.

Pour le bétail, le cuivre constitue un oligo-élément indispensable. Son assimilation dépend de différents facteurs. Les besoins normaux sont voisins de 1 mg par jour, mais l'assimilation étant partielle, DICK conseille 3 mg. Evidemment, cette quantité doit être supérieure si l'alimentation contient des antagonistes du cuivre. Certains auteurs conseillent donc préventivement 5 à 10 mg par jour.

En dehors du bétail, la carence est moins apparente chez les autres animaux, mais le cuivre demeure un oligo-élément essentiel.

La dose indispensable à l'animal est fonction de son poids. Pour le rat, environ 5 gammas par jour (SCHULTZE, ELVEHJEM, 1934) ; pour le porc, de 10 à 50 gammas, avec un supplément pouvant varier de 2 à 4 mg chez les jeunes animaux soumis à un régime lacté, en associant Fe et Mn. TEAGUE et CARPENTIER (1951), ont porté à 100 - 140 gammas par kilog la ration journalière des jeunes porcs.

DUNLOP (1953), observe en augmentant de 10 g de  $\text{SO}_4\text{Cu}$  par jour et



par animal. la ration des vaches laitières, une augmentation des matières grasses du lait de 20,1 g.

Pour la volaille, ce cation est aussi indispensable, mais il est difficile d'en fixer le taux minimum ; la carence en manganèse, plus fréquente, est de ce fait plus étudiée.

L'oeuf contient 30 à 60 gammas de Cu, le jaune plus que le blanc. Les jeunes pondeuses, d'un ou deux ans ont des oeufs plus riches en cuivre que les vieilles. Selon ELVEHJEM, la consommation des sels de cuivre n'entraîne pas, chez ces pondeuses, d'élévation du taux du cuivre de leurs oeufs.

Insistons avec JACQUOT et ADRIAN (1954) sur la nécessité d'un équilibre entre les oligo-éléments, principe déterminant de l'éclosion.

==:==:==:==:~



- III - METHODES de DOSAGE du CUIVRE

Si l'on veut doser le cuivre contenu dans les liquides biologiques ou dans les tissus, on a le choix entre diverses possibilités :

- Soit qu'on utilise des méthodes physiques, comme la spectrographie ou la polarographie, qui sont actuellement encore peu répandues en France, mais dont nous soulignerons l'intérêt dans un premier chapitre,

- soit qu'on utilise des méthodes chimiques, toutes fondées sur le principe de la colorimétrie, et parmi lesquelles nous retiendrons :

- a) les méthodes devenues classiques, à la dithizone ou au diéthylldithiocarbamate (MAC FARLANE),
- b) les méthodes plus nouvelles, plus simples et plus précises de microdosage, dont nous étudierons d'abord le principe avant de donner un exposé détaillé de la méthode de BOHUON, qui est celle actuellement employée à l'Hôpital Bichat, où ont été pratiqués les dosages qui illustrent les quelques observations cliniques que nous joignons à cette étude.



## I - Spectrographie.

Les renseignements que nous communiquons ici nous ont été fournis par l'équipe de recherche T.E. de Riom, que dirige Monsieur R.Y. MAUVERNAY. Cet auteur a consacré lui-même plusieurs communications à l'intérêt de cette méthode. Nous en citerons de larges extraits.

Cette méthode est couramment appliquée aux dosages simultanés des cations : K, Na, Ca, Mg, Fe, Cu, soit dans les solutions, soit dans les liquides biologiques (plasma et sang total en particulier).

La différence essentielle entre ces deux applications réside dans le fait que, pour les dosages effectués dans les liquides biologiques, il est indispensable de traiter d'abord chimiquement le prélèvement.

### A - Préparation chimique du prélèvement.

#### Principe :

- a) destruction de la matière organique,
- b) introduction d'un élément connu servant de référence.

a) La destruction de la matière organique est indispensable pour éviter la vaporisation irrégulière des cations au niveau de l'étincelle ou de l'arc.

5 cc de sang hépariné ou de plasma sont introduits dans un bécher avec 12 cc d'acide nitroperchlorique contenant la solution du métal de référence.

Le bécher est placé dans une hotte, puis chauffé, de façon à l'amener progressivement à la température d'ébullition à laquelle il est maintenu jusqu'au moment de la dessiccation.

Le produit sec de minéralisation est repris par 5 cc d'eau bidistillée jusqu'à dissolution complète des cristaux. On obtient ainsi un liquide clair contenant les cations à étudier, et prêt pour le dosage spectrographique.

b) Le métal de référence choisi est le nickel ou le lithium.

### B - Dosage spectrographique proprement dit.

a) l'appareillage comprend :

- un spectrographe couvrant le spectre ultra-violet de 2 500 à 4 500 Angströms, sur une longueur de 24 cm.
- un générateur d'arc et d'étincelles, allant de l'étincelle contrôlée



à basse tension, jusqu'à l'étincelle à haute tension (12 000 V), ainsi que l'arc continu, en passant par l'arc interrompu. (Consommation maxima : 6 kVA. Alimentation : 220 V - 50 périodes).

- un stabilisateur de courant (4 kVA - 220 V).
- un cerveau mécanique destiné à rendre absolument automatiques toutes les opérations.
- un dispositif de développement des plaques, stabilisé à 20°.
- un spectroprojecteur électrophotométrique.
- les plaques utilisées sont de sensibilité spectrales : 2 200 à 5 000 Angströms.

b) Principe du dosage :

- le liquide est entraîné sous forme d'un mince ruban à l'aide d'un disque de graphite animé d'un mouvement de rotation uniforme de 5 t/min. (moteur synchrone - dispositif analogue à celui utilisé par BOYLE, WHITEHEAD et coll. à Wayne Univ. U.S.A.).
- le disque, formant en même temps une électrode, plonge par sa base dans la nacelle contenant 1,5 cc du liquide à analyser.
- à l'opposé, à 3 mm de distance (réglage optique), se trouve une contre-électrode, également en graphite.
- étant données les faibles quantités à doser, seules les excitations du type "arc" peuvent procurer la sensibilité nécessaire.
- les décharges employées sont du type "arcs interruptifs unidirectionnels", pilotés par étincelles haute fréquence. Ce type de décharge, en plus d'une excellente sensibilité, possède une stabilité en tous points comparable à celle de l'étincelle commandée ; ceci est indispensable à la reproductibilité requise en analyse quantitative.
- le circuit oscillant produisant l'étincelle est alimenté à partir d'un étage redresseur doubleur de tension, fournissant une tension continue de 15 000 V ; l'avantage de ce système est la suppression d'un réglage de phase, toujours délicat et inconstant.
- les impulsions haute-fréquence, dont l'isochronisme est assuré à plus ou moins  $10^{-4}$  sec. près, ne durent qu'environ  $10^{-6}$  sec. au début de chaque impulsion d'arc. Leur crête est de quelques milliers de Volts (12 000) ; leur intensité moyenne de 0,2 A.
- les impulsions d'arc d'une durée voisine de  $10^{-2}$ s ont une intensité de l'ordre de 10 A.
- l'arc est stabilisé à  $\pm 1\%$



c) Exemples de résultats obtenus par la méthode spectrographique.  
(Extraits des comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences, .  
t. 242 - p. 1316-1318; séances du 5 Mars 1956. Note de R.Y. MAUVERNAY,  
transmise par Monsieur TREFOUËL).

"... Soit 1 cc d'une solution complexe à doser (c'est en effet le cas le plus difficile), contenant 30% /cc de Mn, Cu, Co, Zn, Fe, avec comme étalon de référence le nickel. Voici les quantités trouvées :

|                 |      |               |
|-----------------|------|---------------|
| { 30% /cc de Mn | null |               |
| { 30,9 " " Cu   | 2,4% |               |
| { 30,3 " " Co   | 0,8% |               |
| { 30,6 " " Zn   | 1,6% | <u>Erreur</u> |
| { 29,4 " " Fe   | 1,6% |               |

Ce dosage a été réalisé le 23 Décembre 1955, et enregistré sous le numéro de plaque E 900.

A ce jour, nous avons effectué dans les liquides biologiques 7 400 dosages des cations suivants : K, Na, Ca, Mg, Fe et Cu, et 2 000 dosages dans les solutions, pour la plupart complexes, de Mn, Cu, Fe, Zn, Ni, Co, Au, Ag, Cd.

De très nombreuses analyses ont pu être recoupées par photomètre à flamme (K et Na) ou dosages chimiques (Ca, Mg), ou parfois colorimétriques et même polarographiques.

La spectrographie nous a donné des résultats identiques et parfois même supérieurs.

Nous recoupons, en ce sens, les travaux de SMITH, CRAIG, BIRD, BOYLE, ISERI, JACOBSON et MYERS..."

d) Envisageons enfin, après l'exposé de ces résultats très intéressants, les avantages et les inconvénients de la spectrographie.

#### - Avantages :

La méthode spectrographique permet de déterminer les concentrations cupriques dans le sang total et le sérum, d'une façon assez rapide et simple pour une équipe spécialisée.

L'intérêt majeur de l'analyse spectrographique, outre sa haute sensibilité de détection, est de fournir une analyse globale de tous les éléments constitutants de la solution étudiée : l'existence d'une ou de plusieurs raies caractéristiques d'un élément sur le spectrogramme prouve indubitablement sa présence dans la solution considérée, et ce, indépendamment du ou des autres éléments encore présents dans la solution.

La simultanéité des dosages obtenus pour un même sang permet non



seulement de connaître le taux de cuivre considéré isolément, mais également d'établir des rapports entre les différents éléments dosés, en particulier le rapport Cu/Fe.

Nous retenons donc, pour résumer, cinq avantages principaux concernant cette méthode :

- 1) sensibilité  $10^{-5}$ ,
- 2) sélectivité,
- 3) rapidité avec un appareil à lecture directe,
- 4) précision,
- 5) simultanéité des dosages.

- Inconvénients :

Il convient de signaler principalement :

- 1) le coût de l'appareil,
- 2) la difficulté de mise au point.

°  
°     °



## II - Polarographie.

### A - Principe.

Découverte par le Professeur J. HEYROVSKI, l'analyse chimique par la méthode polarographique repose sur l'interprétation de la courbe "intensité de courant potentiel" obtenue lorsque, dans une solution contenant des substances électroréductibles ou électrooxydables sont immergées deux électrodes appropriées, entre lesquelles on applique une différence de potentiel uniformément croissante.

L'une de ces électrodes est pratiquement impolarisable : elle constitue l'électrode dite "de référence", et l'autre (généralement un tube capillaire laissant écouler du Hg goutte à goutte), de très petites dimensions, est essentiellement polarisable. La force contre-électro-motrice de cette dernière varie lorsque, pour un certain potentiel, l'électro-réduction ou l'électro-oxydation s'y produit. Il en résulte une augmentation brusque de l'intensité de courant qui, jusqu'alors, était presque nulle (courant de diffusion).

L'examen des paliers présentés par la courbe permet l'identification et la détermination quantitative des divers éléments constitutifs de cette solution. On démontre, en effet, que le potentiel auquel se produit le palier correspondant à un élément (ou composé) donné, est spécifique, et ne dépend pas théoriquement de sa concentration (potentiel de demi-palier).

#### Remarques :

- 1) le potentiel dont il est fait mention ici est défini par rapport à l'électrode impolarisable (constituée par une électrode à calomel saturée).
- 2) Il y aurait lieu d'élargir cette notion, car on peut réaliser non seulement des polarogrammes de substances ionisables, ou de substances organiques susceptibles de subir une oxydation ou une réduction, mais encore de substances pouvant être adsorbées à la surface du Hg, voire même de substances donnant des "vagues", sans que l'on connaisse bien le mécanisme de cette formation.
- 3) A l'inverse de ce qu'on réalise dans les mesures de conductivité où l'on tend à minimiser le plus possible le phénomène de polarisation, la cellule polarographique est ici conçue de telle sorte que le phénomène de polarisation soit seul à se manifester. La conductivité de la solution est rendue très grande, afin de rendre négligeable la chute de tension due au passage du courant dans la cellule.



B - Méthode opératoire.1) Préparation de la solution à analyser :

La substance à analyser est mise en solution très diluée (de N/100 à N/10 000, par exemple), dans un électrolyte support convenable, dont la concentration est plusieurs centaines de fois plus grande et qui ne comporte pas d'ions susceptibles de se décharger dans l'étendue des potentiels adoptée.

Le choix de cet électrolyte support constitue un cas d'espèce. C'est ainsi que les sels de Na, K, Li, sont le plus généralement employés. Pour la détermination d'éléments alcalins ou alcalino-terreux, on utilise comme support des sels de tetraméthyl-ammonium, dont le potentiel de décharge est beaucoup plus négatif.

Il ne faut pas perdre de vue, non plus, que l'électrolyte support ne doit pas présenter d'ion commun (ou risquant de former un ion complexe) avec les éléments recherchés.

On a souvent remarqué que le potentiel de demi-palier varie avec le pH : il est bon, dans ce cas, d'opérer en milieu tamponné.

Dans la détermination de composés organiques, on adopte généralement l'alcool ou l'acide acétique comme solvants.

Lorsque certains éléments, en solution acide par exemple, ont des potentiels très voisins, leur détermination est très délicate et parfois impossible. Par modification du milieu, en le rendant alcalin ou neutre, il est souvent possible, dans ce cas, de séparer les paliers successifs et de déterminer ainsi correctement chaque élément. Cette méthode complète la polarographie dérivée, qui, qualitativement, a permis de déceler deux éléments sur un seul palier (les auteurs ne sont cependant pas encore d'accord sur la manière d'interpréter les courbes obtenues pour rendre la polarographie dérivée quantitative).

Certains éléments donnent, en fin de palier, une anomalie momentanée (se traduisant par un maximum du courant de diffusion) que l'on peut supprimer en ajoutant à la solution un composé dit "anti-maximum", qui, généralement, modifie la tension superficielle de l'échantillon, par exemple : gélatine, camphre, certains colorants, etc...

On voit que la mise en solution pose des problèmes complexes du même genre que ceux rencontrés dans les autres méthodes d'analyse chimique.

L'échantillon est ensuite soumis, pendant plusieurs minutes, à



l'action d'un courant d'hydrogène ou d'azote pur, et est conservé sous cette atmosphère. Cette opération a pour but d'éliminer les gaz dissous notamment l'O<sub>2</sub>, dont les deux paliers peuvent se confondre avec ceux des éléments à doser.

Certaines solutions alcalines permettent l'utilisation d'un agent réducteur (comme les ions SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>), évitant le dégazage préalable de la solution.

On fixera alors la vitesse de chute des gouttes de Hg ; la vitesse de chute généralement choisie est comprise entre une goutte toutes les deux ou toutes les cinq secondes.

## 2) Enregistrement du polarogramme.

- Alimenter l'appareil en 110 V 50 Hz.

- Placer les interrupteurs "mesure" et tarage" en position marche.

L'interrupteur "mesure" alimente en courant alternatif l'amplificateur de mesure. L'interrupteur "tarage" alimente en courant continu les divers circuits.

Les opérations successives sont donc :

a) tarage,

b) polarisation,

c) vérification(possible à tout moment).

## C - Avantages et inconvénients :

### 1) Avantages :

a) La position de la demi-vague est caractéristique et spécifique de l'élément pour un électrolyte support donné.

b) Par le choix de l'électrolyte support, on peut doser un élément dans une solution complexe sans avoir à faire au préalable une séparation de l'élément en question.

c) Rapidité : une fois un étalonnage fait pour un électrolyte support donné, le dosage peut être fait en vingt à trente minutes maximum (le temps de dégazage étant d'ailleurs la partie la plus longue de l'opération).

d) Emploi d'un étalon interne dans la solution : ceci permet de ne pas tenir compte des conditions externes mais peut aussi compliquer un peu le problème.

### 2) Inconvénients :

a) Pas de possibilité de trouver un électrolyte support qui sépare la demi-vague de l'élément envisagé.



b) Lorsque le phénomène se traduit par une vague anodique (oxydation), l'électrode à mercure peut se polariser et la mesure devient alors plus compliquée.

c

o

o



### III - Méthodes colorimétriques de dosage du cuivre.

#### Historique :

Bien des auteurs ont remarqué que le cuivre est susceptible de donner, avec un certain nombre de corps organiques ou minéraux, des complexes colorés permettant un dosage.

A - Citons, pour mémoire, la méthode chimique classique de dosage du cuivre par la dithyzone, suivant LACQUER et LELOUP (FIESSINGER "diagnostics biologiques et fonctionnels", 6ème édition, p. 604 et suivantes).

Cette méthode est extrêmement délicate, longue, et les causes d'erreur sont loin d'être négligeables : il en résulte qu'elle est restée d'un emploi exceptionnel en pratique médicale courante.

B - Nous décrirons ensuite sommairement la méthode que MAC FARLANE utilisa le premier pour le dosage du Cu sanguin, et qui a été depuis mise au point par différents auteurs, dont CALLAN et HENDERSON.

Cette méthode est fondée sur la mesure de l'intensivité de la coloration jaune d'or du complexe obtenu par action du cuivre sur le diéthylldithiocarbamate de Na, dissous dans l'alcool amylique :



Cette solution du complexe dans l'alcool amylique pur est une modification introduite par MAC FARLANE et rendue nécessaire du fait de la précipitation du sel en milieu aqueux, lorsque la teneur en métal 0,020 mg/cc.

Une cause d'erreur peut être due à la présence de fer qui donne une coloration brune avec le diéthylldithiocarbamate de Na : parmi les procédés proposés pour éliminer cette action perturbatrice, l'action du pyrophosphate de Na semble être la plus intéressante. En effet, sous forme de pyrophosphate, le Fe n'est pas ionisé et, comme l'a montré MAC FARLANE, il perd ses propriétés vis à vis du réactif de CALLAN et HENDERSON, alors que le Cu les conserve.

Pour détruire la matière organique, le meilleur procédé semble être la calcination sèche au four à moufle à 380° - 400°, de préférence à la méthode sulfoperchlorique ou même trichloracétique.



On termine le dosage par comparaison avec une solution témoin dont on connaît la teneur en cuivre. On peut, comme dans tous les dosages colorimétriques, utiliser un colorimètre, un photomètre, ou un électrophotomètre.

C - Microméthodes spectrophométriques actuelles de dosage du Cu total dans les tissus et liquides biologiques.

°  
° °

Nous donnerons d'abord des notions générales sur la marche à suivre, ces notions étant, pour la plupart, empruntées à un article de H. JEROME et Me H. SCHMITT (Bulletin de la Société de Chimie Biol . 1954, tome XXXVI, n° 9, Masson, editeur).

Nous exposerons ensuite en détail la méthode décrite par Claude BOHUON, et qui a été utilisée à la pharmacie centrale de l'Hôpital BICHAT, pour les dosages cités dans nos observations cliniques.



La plupart des microméthodes de dosage du cuivre, de réalisation simple et applicable à de petits échantillons, sont basées sur la mesure de la densité-optique de la solution d'un complexe fortement coloré du métal avec un réactif organique.

Le dosage peut être divisé en trois stades :

- A - Préparation de l'échantillon,
- B - Choix du réactif et conditions de formation du complexe coloré,
- C - Lecture photométrique en phase unique ou après extraction de la coloration.

A - Préparation de l'échantillon.

Le Cu, dans la plupart des produits biologiques, est lié en majorité à des protéines spécifiques, de manière telle qu'il est masqué à ses réactifs. Il peut être libéré par dénaturation des protéines :

- a) soit avec des solvants organiques,
- b) soit par acidification,
- c) soit par minéralisation.

a) Solvants organiques :

ROBINSON, après alcalinisation à pH10, procède à une extraction par l'alcool isoamylique.

Inconvénients : Il se produit une émulsion à l'interface, et des produits colorés sont extraits en quantité importante et variable, en même temps que le complexe métallique. De plus, la méthode est inapplicable au sang total, aux érythrocytes et aux tissus.

ZUCKERKANDL utilise des solvants organiques dénaturants multiples soit en milieu neutre, soit après acidification ou alcalinisation légère.

Mêmes inconvénients que pour la méthode précédente.

b) Acidification :

La seule acidification forte permet de libérer la totalité du Cu d'un échantillon.

TOMPSETT, NIELSEN et CARTWRIGHT ont proposé d'utiliser l'acide trichloracétique, précipitant simultanément les protéines du milieu.

Inconvénients : Opération longue et compliquée.

SHMIDT, HOLMBERG et AXTRUP ont montré qu'il était possible de libérer la totalité du Cu en un temps, et dans un petit volume, en utilisant l'acide chlorhydrique dilué (avant la précipitation des protéines) par



l'acide trichloracétique.

Ce procédé est plus délicat dans son application au dosage du Cu dans les tissus. Dans ce dernier cas, il est plus simple de procéder par minéralisation.

c) Minéralisation :

MAC FARLANE emploie la minéralisation sèche.

Inconvénients : ce procédé est long et délicat, de plus il y a des pertes par volatilisation.

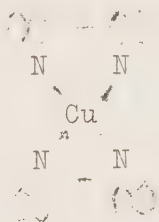
FLEURY préconise la minéralisation nitroperchlorique à sec.

Inconvénients : résultats irréguliers.

Le meilleur procédé est la minéralisation sulfo-nitroperchlorique (utilisée aussi pour le dosage dans l'urine et le L.C.R.).

B - Choix du réactif et conditions de formation du complexe coloré.

BRECKENRIDGE-LEWIS et QUICK (1939) montrent que le 3 - 2' - diquinolyl forme, par chélation avec  $\text{Cu}^+$ , un complexe pourpre, soluble en milieu hydro-alcoolique, de formule :



Ce réactif, par son groupement fonctionnel (cuproïne)

$\text{R} - \text{C} = \text{N} - \text{C} = \text{C} - \text{N} = \text{C} - \text{R}$ , est spécifique du cuivre.

Tandis que les réactifs comportant le groupement fonctionnel "ferroïne" =  $\text{N} - \text{C} = \text{C} - \text{N} = 1,10$  phénantroline 2-2' dipyridyl, sont capables de former des complexes avec  $\text{Fe}^{++}$  et  $\text{Cu}^+$ .

D'autres réactifs possédant le groupement "cuproïne" ont été examinés; certains sont plus sensibles, mais ils sont de préparation plus difficile et le complexe formé avec  $\text{Cu}^+$  est habituellement moins stable.

HOSTE et GILLIS (1950-53) ont étudié le diquinolyl, et en ont proposé plusieurs applications. En comparaison des réactifs autrefois utilisés couramment pour le dosage du Cuivre, tels que la dithizone ou le diéthylcarbamate, le diquinolyl présenterait les avantages suivants :

- Réactif incolore et parfaitement stable à l'état solide et en solution.
- Spécificité vis à vis du Cuivre. Il est donc inutile d'éliminer totale-



ment les traces d'autres métaux, ce qui est toujours difficile à réaliser, surtout pour le Fe, en présence de réactifs comme le diéthylthiocarbamate, utilisé en excès (KARSTEN, RADEMAKER et WABRAVEN - Anal. Chim. Acta. (1948) - 2 - 705).

- Sensibilité élevée. Complexe métallique coloré également très stable. Obtention du complexe dans des limites de pH étendues (de 2 à 9). Couleur pourpre du complexe permettant d'excellentes mesures photométriques.

D'autres réactifs ont, plus récemment, été utilisés, et nous ne citons ici que pour mémoire le biscyclohexanoneoxalyldihydrazone utilisé dans la méthode, mise au point par Claude BOHUON en 1958, que nous exposerons plus loin en détail.

C - Lecture photométrique en phase unique ou après extraction de la coloration.

La mesure peut être réalisée de deux manières :

- a) en maintenant le complexe coloré en solution dans la phase aqueuse en présence de divers réactifs; ceci présente l'avantage de la simplicité.
- b) après extraction du complexe avec un solvant organique non miscible.

Les avantages sont : Concentration possible dans la phase organique, élimination d'impuretés colorées, plus grande sensibilité du complexe après extraction.

Les inconvénients sont : difficultés de décantations et pipetages sur de petits volumes, difficulté d'élimination parfaite de l'eau de la phase organique, et danger d'apparition de troubles extrêmement gênants pour la moindre variation de température (existence d'un coefficient de partage variable avec la température).

Il semble que ces difficultés aient été rencontrées par HOSTE, qui adopte cependant l'extraction.

JEROME et Me SCHIEFF ont choisi le premier procédé, le plus simple, avec les remarques suivantes :

- Obtention d'un volume total minimum, après addition des réactifs, permettant la lecture avec le spectrophotomètre utilisé.
- Excellente stabilité du complexe Cu avec le diquinolyl en présence des réactifs, en milieu hydro-alcoolique.
- Elimination du Fe minéral dans les cas où, en quantité trop importante, il peut entraîner l'apparition d'un trouble.
- Lecture possible selon la loi de BEER (la densité optique est proportion-



nelle à la concentration. Les points se situent sur une droite).

Nous allons maintenant exposer la méthode de PETERSON (1955), modifiée par BOHUON (1958), par laquelle ont été effectués nos dosages, grâce à l'obligeance de Monsieur DOURIS, chef du Laboratoire Central de Biochimie Médicale de l'Hôpital BICHAT.

Cet exposé est extrait des annales de Biologie Clinique (1958, p.73). Insistons sur les difficultés de réalisation pratique de ces dosages.

- a) les prélèvements sanguins doivent être pratiqués chez les malades à jeun et toujours à la même heure, à cause des variations nycthémérales du taux du cuivre sanguin, constatées par différents auteurs.
- b) Le matériel de prélèvement ainsi que celui qui sert aux dosages doit être soigneusement lavé à l'eau bidistillée et protégé de toutes impuretés; en effet, l'eau courante et l'air ambiant peuvent renfermer des traces de cuivre susceptibles de fausser considérablement les résultats.



Microdosage du Cuivre sérique, par Claude BOHUON.

"... Ayant eu l'occasion de pratiquer des dosages de cuivre pour différents services du Groupe Hospitalier NECKER-Enfants Malades, nous nous sommes attachés à rechercher une technique de dosage simple, rapide et demandant peu de sang.

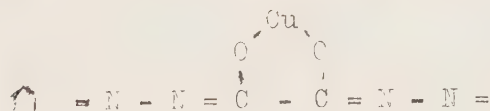
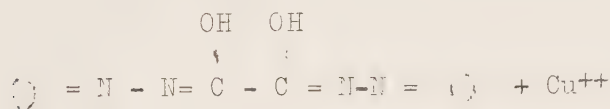
Les principales techniques employées jusqu'alors, basées sur les réactions du cuivre avec la dithizone, le diéthylthiocarbamate, le 2-2' diquinolyne, ne semblent répondre que partiellement aux qualités précisées ci-dessus.

Nous décrivons ici une technique dérivée de celle indiquée par PETERSON( Anal. Chem. USA (1955), 27, 1195) et basée sur la coloration bleue que donne la biscyclohexanone-oxalyl-dihydrazone, avec les ions cuivriques.

Ce corps répond à la formule suivante :



Le cuivre =  $Cu^{++}$ , donnerait avec ce corps un complexe coloré en bleu, selon le schéma suivant :



Cette coloration est spécifique du cuivre à l'état divalent. Elle apparaît entre pH 6,5 et pH 10 environ, mais elle se développe au maximum entre pH 7,5 et pH 8.

Elle est partiellement inhibée par les cyanures et les complexons

Elle disparaît aux environs de 100°

La coloration montre un maximum d'absorption à 6 000 Å.

Prélèvement du sang.

Le sang doit être recueilli dans des tubes coniques en verre, ou des tubes en plastique, préalablement rincés plusieurs fois avec de l'eau bidistillée, puis séchés.

L'heure du prélèvement est importante, car ainsi que l'ont montré les travaux de MUNCH-PETERSEN (Scand. J. Clin and Lab. invest., 1950,



2,48) il y a des variations dans le taux de la cuprémie au cours des 24 heures. Le maximum est atteint au cours de la matinée. En conséquence, nous recommandons de faire les prélèvements toujours à la même heure, par exemple à 9 heures.

#### Principe du dosage :

Le cuivre est libéré de ses combinaisons avec les protides, par acidification convenable du milieu par CLH pendant 10 minutes et à température ordinaire.

Tout le cuivre du sérum est alors à l'état divalent.

La déprotéinisation se fait par l'acide trichloracétique à 20%. Celui-ci, même en l'absence de CLH, libère la majeure partie du cuivre lié.

Dans la solution convenablement neutralisée, le  $\text{Cu}^{++}$  réagit alors avec la biscyclohexanone-oxalyldihydrazone.

La prise d'essai est de 1 ml de sérum ou de plasma, mais on peut, avec une précision suffisante, opérer sur 0,5 ml.

Nous recommandons de faire une gamme d'étalonnage pour chaque série de dosages. Cependant, les chiffres trouvés d'un jour à l'autre sont très voisins.

#### Reactifs :

- R. 1 - Eau bidistillée (on peut très bien utiliser l'eau obtenue avec l'appareil Max Sievert. Si l'on veut obtenir de l'eau totalement privée de cuivre, on peut la traiter avec un peu de talc, laisser en contact après avoir bien agité, et filtrer).
- R. 2 - Solution d'acide chlorhydrique environ 2 N.
- R. 3 - Solution d'acide trichloracétique à 20%, 20 grs d'acide trichloracétique plus eau bidistillée Q.S.P. 1 ml (nous employons le produit MERK).
- R. 4 - Phosphate tripotassique pur : solution saturée (on peut aussi préparer ce réactif en partant de l'acide phosphorique R.P. et en le neutralisant par la potasse R.P., à raison de 3 molécules de base pour une molécule d'acide).
- R. 5 - Solution de pyrophosphate de Na 0,25 M (pour préparer ce réactif, dissoudre à chaud 10,8 gr. de pyrophosphate de Na  $\text{P}_2\text{O}_7\text{Na}_4 \cdot 10 \text{ OH}_2$ , dans 250 ml d'eau bidistillée).



R. 6 - Biscyclohexanone-oxalyl dihydrazone : solution hydro-alcoolique (le produit est fabriqué par Smith Chemical Company, et fourni par la Société Serlabo).

On dissout au bain-marie bouillant 50 mg du produit dans 50 ml d'un mélange à volume égal : alcool absolu-eau distillée. La conservation de ce réactif est excellente à la température ordinaire.

R.7 --Solution alcoolique de phénolphtaléine à 1%.

R.8 - Solution mère de  $\text{Cu}^{++}$  à 200 g/ml. Peser 392 mg de  $\text{SO}_4 \text{ Cu}$  R.P. :  $\text{SO}_4 \text{ Cu}$ , 5  $\text{OH}_2$ , dissoudre dans 500 ml d'eau bidistillée.

R.9 - Solution fille de  $\text{Cu}^{++}$  à 4 g/ml. Diluer au 1/50° la solution mère précédente.

R.10- Solution destinée à l'étalonnage :

Eau bidistillée = 100 ml

Solution d'acide chlorhydrique = 2 N (70 ml).

Solution d'acide trichloracétique à 20% (100 ml).

#### Mode opératoire.

Mettre successivement dans un tube à centrifuger conique :

- 1 ml de sérum,
- 0,7 ml d'HCL environ 2 N (R.2).

Attendre au moins 10 minutes. Ajouter ensuite 1 ml de R.3. (verser goutte à goutte et en agitant). Centrifuger à 4 000-6 000 tours-minute pendant 10 minutes. Prélever 2 ml du liquide clair surnageant, ajouter alors :

- 0,1 ml de R.5
- 1 goutte de R.7
- une quantité suffisante de R.4 pour obtenir une légère coloration rose,
- enfin, 1 à 2 gouttes de R.2 pour décolorer.

On peut vérifier le pH avec un papier indicateur sensible.

Ajouter enfin 0,2 ml de R.6, agiter, puis laisser la coloration se développer à la température ambiante.

Après 1 heure 30, compléter à 4 ml (ou 5 ml si on ne possède pas de tubes jaugés à 4 ml) avec de l'eau bidistillée, et lire la coloration à 6 000 Å.

Nous mesurons les absorptions au spectrophotomètre "Unicam" dans des cuves de 3 cm (ou 2 cm, mieux).



### Etablissement de la courbe d'étalonnage.

Nous recommandons de faire une gamme d'étalonnage pour chaque série de dosages. Nous opérons de la façon suivante :

- répartir dans 5 tubes (avec trait de jauge à 4 ml) (+) 2 ml de R. 10.
- ajouter R.9 : 0,125 ml, 0,25 ; 0,375 ; 0,75 ml, puis continuer comme pour le dosage.

De cette façon, on a les concentrations en cuivre suivantes :

0,5 - 1 - 1,5 - 2 - 3 mg pour 4 ml (ou 5 ml).

On prépare toujours en outre un tube où l'on n'a pas ajouté de cuivre. Il sert à vérifier que les réactifs n'apportent pas une quantité trop importante de cuivre.

### Calculs.

Soit X le chiffre trouvé pour le dosage.

Ce chiffre est alors porté sur la courbe établie dans les mêmes conditions et l'on en déduit la concentration en cuivre, dans 2 ml de déféquation. Ce chiffre doit être multiplié par 1,35 pour donner le cuivre exprimé en mg dans 1 ml de sérum.

### Discussion.

#### 1) Etude du développement de la réaction.

Nous avons constaté que dans les tubes correspondant aux déféquats sériques, il y a un retard des colorations par rapport à celle de la gamme.

La coloration maxima n'est atteinte dans les tubes correspondant au sérum, qu'après environ une heure.

La coloration reste stable ensuite pendant environ 2 heures. Pour cette raison, nous lisons toutes les colorations au bout d'une heure 30.

#### 2) Nécessité d'employer le pyrophosphate (R. 5).

Le pyrophosphate est absolument indispensable, car en son absence il se développe un trouble après dix minutes environ, et celui-ci augmente avec le temps, empêchant toute lecture valable.

Nous avons été amenés à bien préciser le titre du pyrophosphate, car à trop forte concentration il inhibe légèrement le développement de la réaction.

0,1 ml d'une solution 0,25 M nous est apparu comme la concentration optimum à employer.

#### 3) Neutralisation du déféquat sérique.

La coloration maxima aux environs de pH 7,5 à 8.



Pour arriver dans cette zone de pH, nous conseillons de verser R.4 goutte à goutte, en présence de la quantité précisée de R.7, jusqu'à très léger rose, puis d'ajouter R.2 jusqu'à décoloration. A ce stade, nous sommes à un pH de 7,5. Avec un papier indicateur de pH, on vérifie l'exactitude du pH recherché.

#### Résultats.

Avec cette technique, la valeur normale de la cuprémie est de 120  $\mu$ g pour 100 ml de sérum.

Dans des sérum normaux, nous avons trouvé des chiffres allant de 90 à 140  $\mu$ g. Ces chiffres rejoignent ceux de CARTWRIGHT (symposium n° 10, Janvier 1955) qui a pratiqué des dosages de cuivre sur le sérum de 228 individus normaux, et a trouvé une moyenne de 116  $\mu$ g pour 100 ml de sérum, avec des chiffres extrêmes de 68 à 161  $\mu$ g. Nous avons trouvé des cuprémies basses dans les néphroses lipoïdiques.

Les chiffres trouvés dans la dégénérescence lenticulaire semblent assez variables et le cuivre urinaire semble beaucoup plus intéressant.

Nous avons trouvé des cuprémies élevées dans la grossesse, dans les ictères par rétention..."



- IV - CUIVRE en CLINIQUE HUMAINEI. Résultats des dosages chez l'homme:

Le rôle du cuivre chez l'homme se précise chaque jour. Son dosage dans les tissus et la méthode des bilans ne pouvant être réalisés comme chez l'animal, son étude repose principalement sur les résultats fournis par l'analyse du sang et du sérum.

Les dosages réalisés sur le sérum humain, soit par la méthode spectrographique, soit par les méthodes colorimétriques, donnent un taux moyen de  $115 \pm 5$ , pour 100 cc de sérum chez l'homme adulte normal.

Les auteurs n'ont pas noté de différence sensible chez la femme, en dehors des périodes menstruelles.

Le taux normal de la sidérémie est, comparativement, de  $140 \pm 40$  pour 100 cc.

Dans le sang total, le taux du cuivre est légèrement abaissé, aux environs de 105 pour 100 cc de sérum.

CARTWRIGHT (Copper Metabolism Mc ELROY et GLASS-JOHN Hopkins, Baltimore, 1950), donne le tableau suivant (en mg par litre).

|       | Sang total   | Plasma        | Cellules    |
|-------|--------------|---------------|-------------|
| Homme | 0,89 - 0,93  | 0,100 - 0,110 | 0,74 - 0,79 |
| Femme | 0,93 - 0,100 | 0,100 - 0,119 | 0,70 - 0,79 |

Chez l'enfant, nous rapporterons les données établies par LESNE-ZIZINE et BRISKAS, ainsi que par POLONOWSKI. Ces auteurs ont poursuivi leurs recherches sur le sang du fœtus, du prématuré, du nouveau-né, du nourrisson et de l'enfant normal jusqu'à l'âge adulte. Ils ont précisé que c'est pendant la période foetale que le taux du cuivre est de beaucoup le plus élevé, variant de 1,95 à 2,35 mg/l chez le fœtus de 5 à 6 mois, et chez le prématuré de 7 à 8 mois. Chez les enfants vivants, nés le taux du cuivre oscillerait de la naissance au 10ème jour entre 0,73 et 1,06 mg/l. Après le 10ème jour, ce taux continuerait d'augmenter pour se stabiliser vers le 2ème mois de la vie aux environs de 1,35 mg/l. (Précisons que ces chiffres furent établis par la méthode au dithiocarbamate).

Le cuivre a été aussi dosé dans les tissus.



CUNNINGHAM indique, pour quelques organes, les chiffres moyens suivants chez l'adulte (exprimés en p.p.m. de poids sec).

| Foie | Rein | Cerveau | Rate | Pancréas |
|------|------|---------|------|----------|
| 24,9 | 17,5 | 17,5    | 5,2  | 4,3      |

Le foie, principal organe de stockage, comme pour tous les animaux, joue le rôle régulateur.

NIELSEN et LAHEY (J. Clin. invest. 32, 322-29, 1953), signalent en outre des taux de cuivre abaissés le matin, et variables suivant le mouvement rythmique quotidien:

- augmentation dans la matinée,
- diminution dans l'après-midi,
- abaissement très net après minuit.

MUNCH et PETERSEN (1950), de même SAVAGNONE (Université de Palerme, 1953) pratiquant des dosages chez douze malades présentant des processus inflammatoires divers trouvent les chiffres moyens suivants :

- 156 µ à 8 heures,
- 135 µ à 13 heures,
- 106 µ à 21 heures.

Les besoins quotidiens sont au minimum de 7 à 8 mg chez l'enfant et de 2 à 3 mg chez l'adulte pour maintenir un bilan positif.

Chez la femme, la teneur en cuivre est de 950 à 1230 µ par litre de colostrum, de 600 à 950 µ pour le lait au deuxième mois de l'allaitement, et de 300 à 700 µ pour le lait au 9ème mois.

Nous avons déjà vu que le lait de vache est moins riche (170 à 500 µ dans le lait d'été, moitié moins dans le lait d'hiver), mais le transport dans les récipients métalliques et les traitements industriels peuvent l'enrichir.

Des variations physiologiques du taux de la cuprémie sont à signaler chez la femme, au cours de la grossesse : nous y reviendrons au chapitre "Cuivre et Endocrinologie".



## II - Variations pathologiques du taux de la cuprémie.

### Cuivre et anémies.

Le rôle du cuivre dans l'hématopoïèse a été déterminé par les recherches de HART, puis STEENBOCK et ELVEHJEM, qui montrèrent que des rats et des lapins soumis au régime lacté intégral développaient une anémie à la fois ferriprive et cupriprive.

Nous avons vu d'autre part que le bétail élevé sur des régions au sol carencé en cuivre développait une anémie, le plus souvent hypochrome et microcytaire, d'origine apparemment ferriprive, mais corrigée seulement par un apport de cuivre.

AXTRUP a cité des cas d'anémie chez l'enfant, non améliorés par l'administration de quantités convenables de fer, alors que l'administration de cuivre entraînait au contraire une élévation du taux de l'hémoglobine.

Plusieurs auteurs (dont HUTCHINSON, dans une étude générale sur la biochimie du cuivre, 1938), signalent la supériorité de l'association Fe - Cu, dans le traitement d'anémies réfractaires à la seule thérapeutique martiale. Les travaux de GUBLER et CARTWRIGHT confirment cette notion en démontrant que la présence de Cu double l'absorption intestinale du Fe radio-actif (1952).

LESNE et BRISKAS ont même observé que chez des veaux ou de jeunes agneaux anémiques le cuivre agit seul, sans addition de fer.

Nous savons, d'autre part, que le lait de femme est 3 fois plus riche en Cu que le lait de vache.

Nous insisterons donc sur l'intérêt du traitement associé Fe-Cu dans les anémies du nourrisson, et en particulier du prématuré nourri au lait artificiel ou au lait de vache. Chez le prématuré, en effet, les réserves hépatiques (environ 6 fois plus importantes, relativement, chez le nourrisson que chez l'adulte) n'ont pas eu le temps de se constituer, et le bilan cuprique devient négatif très tôt avec l'allaitement artificiel vers le 5ème mois avec l'allaitement maternel.

L'association Mn-Cu-Co-Vit.B12 et Fe semble constituer la meilleure synergie thérapeutique.



D'après SCHULTZE, la carence en cuivre entraînerait une diminution d'activité de la catalase du foie et de la cytochrome-oxydase de la moelle.

De même SCHUBERT et RIEZLER constatent que chez des rats anémiques, la radio-activité due au Cu 64 apparaît beaucoup plus rapidement au niveau de la moelle osseuse que chez des rats normaux.

Nous envisageons, après TURPIN et ses coll., le taux de la cuprémie séparément au cours des anémies hypochromes et hyperchromes.

A - Au cours des anémies avec sidérémie basse :

a) Soit la cuprémie est normale.

Ainsi, au cours de la chloroanémie et de l'anémie hypochrome ferriprive on constate alors une élévation du cuivre globulaire et de la protoporphyrine libre.

b) Soit la cuprémie est élevée.

Ainsi au cours des anémies infectieuses, cancéreuses, leucémiques.

De même, après une hémorragie, où l'on constate également une augmentation du cuivre globulaire et de la protoporphyrine libre.

B - Au cours des anémies avec sidérémie élevée :

a) Soit la cuprémie est normale.

C'est le cas dans l'anémie de BIERMER, où il y a défaut d'utilisation du fer. Le cuivre globulaire est normal aussi.

b) Soit la cuprémie est élevée.

C'est le cas au cours des anémies hémolytiques où le cuivre paraît être mobilisé en vue d'une régénération sanguine. Le cuivre globulaire s'élève aussi légèrement dans ces cas.

La thalassémie s'accompagne aussi d'une élévation de la cuprémie et du cuivre érythrocytaire (sauf dans les cas où une splénectomie a été pratiquée).

.....







d) Enfin, il facilite la respiration des érythrocytes assurée par le cytochrome.

c

o

o



### III - Cuivre et maladies infectieuses.

Toute infection, qu'elle soit aiguë ou chronique, s'accompagne, au moins dans la phase initiale, d'une hypercuprémie très nette, contrastant avec un hyposédérémie plus ou moins importante.

Le Cu semble mobilisé, prenant la place du Fe dans le sang.

Un simple coryza fébrile peut entraîner une hypercuprémie importante.

Dans les infections, la diminution du fer sérique, par défaut d'absorption et par fuite vers les tissus, accompagnée d'une hypercuprémie, représente un phénomène constant, qui débute avant toute altération de l'hématopoïèse.

Il semble qu'on puisse considérer l'hypercuprémie comme une réaction de défense spécifique de l'organisme, en relation avec le déséquilibre du système neuro-végétatif.

Les expériences d'HELLMEYER éclairent cette notion. Cet auteur constate, en effet, que les agents qui activent le système réticulo-endothélial, tels que les injections de lait, de protéines étrangères ou d'antitoxines (diphtérique, tétanique ou méningococcique), entraînent une élévation du Cu plasmatique et une diminution du Fe.

Le cuivre semble bien participer à la formation des anticorps, peut-être par excitation du S.R.E. (TUYUNO, stimulant ce système par l'argent colloïdal, le bleu trypan ou la tyroxine, mobilise le Cu hépatique ou splénique).

TURPIN et ses coll. (1953), citent les valeurs moyennes suivantes des taux de cuprémie et de sidérémie, exprimés en g pour 100 cc de sérum, dans différents états pathologiques chez l'enfant.

|                                   | cuivre | Fer |
|-----------------------------------|--------|-----|
| Primo-infection tuberculeuse      | 166    | 66  |
| Nodules tuberculeux               | 188    | 58  |
| Méningite tuberculeuse            | 177    | 68  |
| Tuberculose pulmonaire bilatérale | 185    | 118 |
| R.A.A.                            | 152    | 94  |
| Fièvre typhoïde                   | 172    | 75  |



Nous voyons que, si dans la tuberculose il existe une élévation notable du cuivre et un abaissement du fer, dans le R.A.A. le fer reste sensiblement normal, tandis que le cuivre s'élève (BRENNER, TURPIN).

Au cours des infections, on constate une élévation parallèle du cuivre dans les globules rouges et dans le plasma et, en même temps que la cuprémie s'élève, le foie s'enrichit en cuivre.

PANIZZI (Padoue, 1954) signale aussi une hypercuprémie au cours des infections virales, qui se normaliserait plus tôt que lors des infections bactériennes.

SCHUBERT et coll. ont montré avec le Cu 64 radioactif chez le cobaye tuberculeux, que les poumons infectés présentent une radioactivité quatre à cinq fois plus grande que les poumons normaux.

Citons à ce sujet les expériences réalisées récemment par l'équipe de recherche T-N. de Rion.

Les essais ont porté sur trois sortes de souris, auxquelles du Cu 64 avait été injecté par voie intrapéritonéale :

- a) Souris saines.
- b) Souris carencées en Cu.
- c) Souris malades (création d'un foyer infectieux) : pleurésie.

Les deux premiers lots étant divisés en trois groupes :

- 1) Souris exécutées au bout de 6 heures environ.
- 2) " " " " "23 " " .
- 3) " " " " "32 " " .

Ces auteurs employèrent la méthode auto-radiographique, mise au point au laboratoire de physiologie de SACLAY, par Monsieur le Professeur PELLERIN.

Le principe de la méthode est basé sur le fait qu'un atome d'élément radio-actif, pour se transformer comme un atome ordinaire, puis, à un moment donné, explose en émettant des rayons qui impressionnent une plaque photographique.

Dans le procédé expérimental du Professeur PELLERIN, on injecte un élément radio-actif à une souris qui est ensuite sacrifiée par congélation dans l'azote liquide, après des temps de métabolisme plus ou moins longs. La souris rendue très dure est alors sciée et linée, puis, à partir des plans de coupe ainsi obtenus, on fait une photographie en vraie grandeur et une autoradiographie du même plan. Par superposition



photographie-autoradiographie, on obtient les points de localisation de l'élément injecté.

L'avantage de la congélation et de toute manipulation à très basse température (de l'ordre de  $-190^{\circ}$  C.) est de stopper toute réaction chimique et toute diffusion du corps radio-actif.

La méthode comprend donc 2 parties :

#### A - Usinage.

Après injection du corps radio-actif - le Cu 64 -, la souris est laissée vivante, suivant la durée d'étude envisagée pour le temps de métabolisme de cet élément à travers l'organisme.

Après anesthésie à l'éther, les souris sont attachées légèrement en extension, sur un bâti en matière plastique, pour leur maintien en une position donnée et choisie.

Cet ensemble souris-bâti est plongé dans l'azote liquide à  $-195^{\circ}$  C. pendant une dizaine de minutes. Puis, la souris détachée du bâti, retirée de l'azote, est placée dans un moule en aluminium, les espaces libres étant complétés avec du plâtre qui, une fois pris, maintient la souris en place. Le tout est alors réfrigéré à nouveau.

Au bout de 10 à 15 minutes, on retire cet ensemble de l'azote, on le scie en deux dans le sens de la longueur. On obtient ainsi une coupe médiane de la souris.

On fraise alors en surface, au moyen d'un outil tournant à grande vitesse, pour atteindre le ou les organes à examiner; le finissage de la surface se fait avec une lime spéciale.

#### B - Photographie.

On photographie la portion de souris au moyen d'un appareil à grand tirage permettant d'obtenir le rapport 1/1, en vue d'une photo grandeur réelle.

Puis, des plaques spéciales pour autoradiographie sont disposées directement sur la portion de souris congelée et déjà photographiée. Une vis maintient l'ensemble sur un support. Une surface de matière plastique assure la protection de la plaque. Le tout est alors placé dans une cuve calorifugée, au-dessus de l'azote liquide, pour maintenir à basse température ( $-120^{\circ}$  C.), évitant ainsi la détérioration de la gélatine qui aurait lieu à température normale, et la diffusion de l'élément étudié.

L'impression de la plaque par les radiations dure de 10 à 40 heures, suivant le cas.



On obtient ainsi des "auto-radiographies", c'est-à-dire que l'emplacement et la forme des organes, s'ils contiennent le corps radio-actif, se révèlent au développement. Un système de repères, sur la photo et l'auto-radio, permet leur superposition et la localisation de l'élément radio-actif.

Dans ces conditions d'expérience (que nous avons exposées en détail pour leur intérêt d'actualité) les résultats obtenus furent les suivants :

| Après 6 heures                                                              | Après 24 heures                                                                                           | Après 32 heures                                                                                          |
|-----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <u>Premier lot : souris saines</u>                                          |                                                                                                           |                                                                                                          |
| a) contours de la cavité <u>péritonéale</u> faiblement marqués.             | a) contours péritoneaux idem.                                                                             | a) contours péritoneaux rien de visible.                                                                 |
| b) <u>poumons</u> : légères marques.                                        | b) <u>poumons</u> : rien de visible.                                                                      | b) <u>poumons</u> : rien de visible.                                                                     |
| c) <u>Foie et Reins</u> : semblent avoir pris à peu près la même dose de Cu | c) <u>Foie et reins</u> : légèrement marqués.                                                             | c) <u>Foie</u> : marqué faiblement.<br><u>Reins</u> : rien de visible.                                   |
| d) taches dans les parties musculaires.                                     | d) taches plus faibles                                                                                    | d) taches musculaires très faibles.                                                                      |
| <u>Deuxième lot : souris carencées en Cu</u>                                |                                                                                                           |                                                                                                          |
| a) contours péritoneaux bien marqués.                                       | a) contours péritoneaux plus faiblement marqués.                                                          | a) contours péritoneaux : plus rien.                                                                     |
| b) <u>poumons</u> : non marqués                                             | b) <u>poumons</u> : idem.                                                                                 | b) <u>poumons</u> : idem.                                                                                |
| c) <u>Foie</u> : très légèrement marqué.<br><u>Reins</u> : très accentués   | c) <u>Foie</u> : semble avoir capté la presque totalité du Cu.<br><u>Reins</u> : intensité très diminuée. | c) <u>Foie</u> : semble avoir tout pris (l'intensité des taches est faible)<br><u>Reins</u> : plus rien. |
| d) taches musculaires.                                                      | d) taches plus faibles.                                                                                   | d) plus de taches.                                                                                       |



Troisième lot : souris atteintes de pleurésie.

Après 6 heures :

- a) contours péritoneaux marqués.
  - b) poumons non marqués, mais la cavité pleurale, lieu de l'infection, est bien marquée, donc importante fixation de Cu.
  - c) foie non marqué.
  - d) reins très nettement marqués.
- =====

Remarque :

La diminution de l'intensité des taches après 32 heures est due à la diminution du rayonnement du Cu 64, dont la période est de 12,6 H.

Conclusions :

Il apparaît donc que les points de localisation du Cu 64 en fonction du temps de métabolisme de cet élément se répartissent de la façon suivante :

- a) cinq ou six heures après l'injection, les auteurs, après SCHUBERT et coll. (1943-1948), retrouvent que le taux du Cu 64 baisse rapidement dans le sang.

On note, en outre, sur la musculature, quelques points de fixation du cuivre, semblant être dus à la section de gros vaisseaux sanguins lors de l'usage.

Un léger grisé à l'emplacement des poumons, sur l'autoradiographie, confirme encore ces résultats.

Sur les souris non carencées, après le même temps de métabolisme, reins et foie ont fixé sensiblement la même quantité de cuivre.

Par contre, il est intéressant de noter que, aussi bien dans le cas de souris carencées que de souris atteintes de pleurésie, une grosse quantité de cuivre s'est portée aux reins, alors que le foie n'a encore pratiquement rien fixé.

- b) Après 24 heures de métabolisme, il reste très peu de Cu 64 dans la circulation sanguine.

La quantité de Cu 64 fixée par les reins a nettement diminué par rapport à celle des premières heures.

Dans le cas de souris non carencées, le taux cuivrique du foie semble s'être maintenu, alors qu'on le trouve très fortement augmenté chez les souris carencées.

- c) Après 36 heures, seul le foie, dans tous les cas, a gardé du Cu 64.

L'intérêt des expériences que nous venons d'exposer dépasse donc



le cadre des infections ; en effet, grâce à des travaux de ce genre, une meilleure connaissance du métabolisme des oligo-éléments pourra s'élaborer. Cependant, dans le cadre même de ce chapitre, de telles expériences permettent d'affirmer. ce que nombre d'auteurs avaient déjà pressenti, à savoir que, lors des infections, le cuivre est effectivement mobilisé et se porte au niveau des foyers inflammatoires.(par exemple, en cas de pleurésie, on le retrouve en grande quantité au niveau de la cavité pleurale).

Dès lors, la question se pose des possibilités thérapeutiques du cuivre comme agent anti-infectieux.

De nombreux auteurs, bien avant la découverte des agents antibiotiques, se sont attachés à ce problème, et de nombreux essais ont été tentés, en thérapeutique, dont certains ne sont pas restés sans succès, en particulier dans le domaine de la tuberculose, comme nous le verrons plus loin.

°

° °



#### IV - Action du Cu complexé.

Dans les infections, la combinaison d'un composé organique avec le cuivre est peut-être le véritable principe antibactérien.

Le chélate organique, ainsi appelé, est, dans la majorité des cas, plus actif que le composé organique initial.

L'OXINE (ou 8 Hydroxy-<sup>ino</sup>quinoline), par exemple, et ses dérivés, doivent leurs propriétés antibactériennes à leur pouvoir de captation des métaux.

ALBERT, GIBSON et RUBBO (1953) formulent l'hypothèse que l'oxine exerce son effet bactériolytique par combinaison avec les ions métalliques du milieu et que les chélates ainsi formés catalysent l'oxydation des constituants cellulaires essentiels.

Voici les conclusions de ces auteurs, concernant l'action bactéricide de l'oxine, en présence de sulfate cuivrique dans de l'eau distillée et dans un bouillon de culture, sur le staphylococcus aureus (à 15° - pH 6,7-7,2). L'oxine seule paraît être inactive ; son efficacité serait due au complexe oxine - métal (l'excès de métal diminuant l'action bactériologique).

Les propriétés antimicrobiennes du cuivre avaient été observées depuis longtemps. Au siècle dernier, BURCQ montrait l'efficacité des sels de cuivre contre le choléra au cours des épidémies de 1833, 1849, 1858, 1866, - efficacité vérifiée à Toulon, Marseille, ainsi qu'en Espagne et en Suède.

RADEMACHER pensait que le cuivre agissait en permettant la multiplication des anticorps, et en augmentant ainsi l'auto-défense. Mais c'est à propos de la tuberculose que les auteurs ont recueilli le plus grand nombre d'observations.

##### Cuivre et Tuberculose.

On avait remarqué depuis longtemps la rareté de la tuberculose chez les ouvriers travaillant dans les différentes industries du cuivre (chaudronneries, fabriques d'acétate de cuivre ou verdet, etc.) et déjà en 1894 LUTON, père et fils (revue de la tuberculose, 1896) proposèrent l'emploi des sels de cuivre dans le traitement de la phthisie.

Ces essais de chimiothérapie par les sels de cuivre furent poursuivis.

En 1913, MEISSEN en démontrait l'inocuité pour les animaux. Par contre, NAEFELI indiquait son extrême toxicité (même à la dose de 1 millionième)



pour certaines algues, on l'employa dès lors avec avantage pour combattre les mycoses des plantes et aussi contre le favus.

En 1916, LYDIA M. de WITT et HOPE SHERMAN remarquaient que dans des milieux de culture additionnés de 2/100 000 èrre et même de un millionième de sels solubles de Cu, le bacille tuberculeux refusait de pousser, mais ils se heurtaient à des difficultés dans l'application pratique et devaient constater que, " dans l'organisme, ces sels solubles sont immédiatement transformés en sels insolubles et fixés dans les tissus autour du point d'inoculation où ils déterminent des ulcérations et des nécroses".

Puis suivirent des essais expérimentaux sur le cobaye, et même thérapeutiques sur le malade tuberculeux, d'injections intra-musculaires de sulfate, d'acétate, d'oléate ou d'albuminate de Cu, des inhalations répétées de Verdet, etc..., mais l'action de ces traitements était loin d'être concluante.

L'emploi du chlorure cuivrique sembla apporter un début de solution.

Citons CALMETTE :

"... Me VON LINDEN, sur les indications du Professeur FINKLER à BONN, a entrepris des séries d'expériences en utilisant le chlorure cuivrique seul, ou associé au bleu de méthylène. J'ai eu l'occasion de voir en 1913 des cobayes qu'elle avait d'abord inoculés avec du bacille tuberculeux d'origine humaine, et qui reçurent ensuite pendant plusieurs semaines des injections sous-cutanées de chlorure cuivrique : il est incontestable que, chez ces animaux, les lésions étaient très différentes de celles que présentaient les témoins, leurs organes viscéraux ne contenaient pas de tubercules caséeux, mais seulement des lésions cicatricielles fibreuses..."

Von LINDEN observait les mêmes effets de protection des animaux par l'emploi en frictions répétées à la surface du corps d'une pommade contenant une combinaison de Cu et de lécithine. Les analyses prouvaient que 65% du Cu était retenu dans les tissus.

À la suite de ces expériences, d'autres tentatives de traitement de malades tuberculeux furent entreprises, avec des résultats intéressants. En 1913, MEISSEN, au sana de HOHENHONNEK, traitait des tuberculeux par inoculations sous-cutanées répétées une à deux fois par semaine pendant 3 mois de solutions à 1% de chlorure de cuivre ou de tartrate cupropotassique. Dans 80% des cas, il observait une chute de la température, la disparition des crachats et une amélioration manifeste de l'état général sans réactions de foyers.



En 1916, KOGA utilisait une préparation dite "cyanocuprol" (solution de 0,2 g% de cyanure de K et de Cu, additionnée de 1% de  $\text{Cl}_2 \text{Ca}$ ). Il obtenait ainsi la formation de tissu conjonctif autour des tubercules et la cicatrisation de ceux-ci, tant chez le cobaye que chez l'homme.

On vit ensuite apparaître, sous le nom de "Cuprocyran" un cyanure de K et de Cu, "non caustique et facilement injectable en intra-veineuse, sous-cutané ou intra-musculaire" (SERONO, 1921). Puis d'autres composés, dérivés iodés (Cupriodase) ou benzéniques de Cu furent employés avec succès.

Cependant, les résultats furent beaucoup plus intéressants encore lorsqu'on commença à utiliser des composés organiques de Cu sous une forme colloïdale. Les premiers essais eurent lieu à l'étranger : GORALEWSKI, utilisant le cuivre complexé par voie intra-veineuse, traita 117 tuberculeux sans troubles. Il s'agissait de cas de gravité moyenne, quelquefois avec des lésions étendues et des cavernes, mais sans fièvre !

- 51 malades virent les B.K. disparaître des crachats.
- 39% une baisse de la sédimentation.
- L'état général de tous devint satisfaisant et le poids augmenta en moyenne de 6 kg.

Ces résultats furent contrôlés depuis par de très nombreux auteurs, notamment STEPHANI (France, 1934), FIECKLER, NEISSER, REINHART (Allemagne), SORG (Autriche), MAC DOWELL, DAVID PERLA (Amérique du Sud), BONNARIGO (Italie), GIMENEZ (Mexique), KRYSZTOF (Pologne), etc...

L'emploi du Cu radioactif a donné de nouvelles preuves de l'action du cuivre dans la tuberculose : SCHUBERT, MAURER et RIEZLER (1948), étudiant la localisation du Cu 64, remarquèrent les résultats satisfaisants du traitement cuprique dans certaines formes de tuberculose. Des injections sous-cutanées de 25  $\mu$  de Cu radio-actif, faites à 92 cobayes, dont 17 atteints de tuberculose pulmonaire très évolutive, permettent de suivre cet élément, qui se fixe très rapidement dans le foie, le rein, et la moelle osseuse, puis dans le tissu pulmonaire. Les poumons tuberculeux en fixent 4 à 5 fois plus que les poumons normaux.

Il semble que le poumon tuberculeux fixe le Cu 64 plus rapidement et plus intensément que le tissu normal (24 heures après l'injection, 4 à 5 fois plus de Cu 64 que normalement est encore fixé dans le poumon malade).

En cas d'empyème tuberculeux de l'articulation du genou, le Cu se transpore au niveau de l'infection, ce pus peut contenir 4 fois plus de Cu 64 que celui d'un abcès sous-cutané.



L'emploi du Cu comme traitement d'appoint au cours de la tuberculose peut donc être envisagé sous forme d'oligo-élément.

D'autre part, il semble que le Cu renforce l'action des tuberculostatiques.

Ainsi, selon ALBERT (1953), l'I.N.H. forme, avec les ions cuivriques, deux complexes très actifs, complexes particulièrement stables dans les cellules où les acides aminés se trouvent à basse concentration, car le Cu peut former aussi des complexes avec les acides aminés.

De même, dans un milieu pauvre en Cu, l'activité tuberculostatique de la 8-hydroxyquinoline diminue nettement (RUBBO-ALBERT-GIBSON, 1950). ERLENMEYER, RAUMIER et ROTH (Suisse, 1953), montrent, par le tableau suivant, le renforcement de l'action de quelques composés, par addition de Cu. Normalement, ces composés se complexent avec le Cu, mais, déjà combinés avec ce métal, ils augmenteraient la concentration dans le système enzymatique, provoquant un déséquilibre, et l'échange des ions métalliques dans le milieu ambiant.

Enfin, outre la formation de ces complexes, les ions  $\text{Cu}^{++}$  possèderaient aussi la propriété d'empêcher la formation de bacilles résistants à l'hydrazine isonicotinique (ERLENMEYER, 1954).

.....



|                                                     | Concentration<br>inhibitrice sur le<br>B.K. du composé seul | Concentration<br>inhibitrice sur le<br>B.K. après addition<br>de Cu <sup>++</sup> M/5 000 | Facteur de<br>potentiali-<br>sation du<br>cuivre. |
|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 5-oxyquinoxaline                                    | M/ 1 000                                                    | M/ 200 000                                                                                | 200                                               |
| 1-oxyphénazine                                      | M/ 5 000                                                    | M/ 20 000                                                                                 | 4                                                 |
| Acide azo-barbitu-<br>rique - antipyrine            | M/ 1 000                                                    | M/ 800 000                                                                                | 800                                               |
| Salicylaldoxine                                     | M/ 5 000                                                    | M/ 200 000                                                                                | 40                                                |
| Acide azo-naphtio-<br>nique - Antipyrine            | M/ 1 000                                                    | M/ 50 000                                                                                 | 50                                                |
| O-Aminophénol                                       | M/ 50 000                                                   | M/ 100 000                                                                                | 2                                                 |
| p-nitrobenzylidène<br>o-aminophénol                 | M/ 50 000                                                   | M/ 100 000                                                                                | 2                                                 |
| 4-pyridol-O-amino<br>phénol                         | M/100 000                                                   | M/200 000                                                                                 | 2                                                 |
| 5-amino-thiazol-2-<br>acide carbonique<br>thioamide | M/ 5 000                                                    | M/ 100 000                                                                                | 20                                                |
| 1-pyrrolo(2,3 h)<br>quinoline<br>2-acide carbonique | M/ 5 000                                                    | M/ 50 000                                                                                 | 10                                                |



V - Cuivre et cancer.

Au cours des atteintes cancéreuses, il est de règle de constater une augmentation très importante du taux du cuivre sérique (200-300 et jusqu'à 400 . pour cent cc). Parallèlement, selon TURPIN et coll., ainsi que KOCH et SMITH (1956), l'élévation du taux du Cu dans les organes de dépôt est de rigueur, surtout dans les cas de cancers avec métastases.

POWEL, WHITE et GUERITHAULT, dès 1921, émettaient l'hypothèse qu'un appauvrissement de l'organisme en cuivre pourrait prédisposer au cancer.

Plus tard, EDELBACHEZ et GERLACH signalent la teneur plus forte en cuivre, au sein des tumeurs malignes, que dans les parties saines périphériques.

Par contre, selon HELMEYER et CARTWRIGHT, le cuivre globulaire n'augmenterait par parallèlement au cuivre sérique.

Signalons d'autre part, qu'en fin d'évolution (abaissement de la défense de l'organisme), ou dans les cas de tumeurs traitées par les anti mitotiques (E39 BAYER), on peut trouver des cuprémies moins élevées ou normales.

L'étude des variations de la cuprémie, au cours de l'évolution des processus néoplasiques, aurait peut-être un intérêt pronostic, permettant d'apprécier leur degré d'évolutivité et leur potentiel de malignité.

Au cours des leucémies et de la maladie de HODGKIN, on trouve aussi habituellement une hypercuprémie importante.

Signalons qu'un supplément important de Cu au régime de rats greffés d'un sarcôme s'opposerait au développement de la tumeur (POLONOVSKI, 1952).

Chez l'homme, l'emploi du Cu en cancérologie a été tenté (LERICHE, "cancérologie", 1938), avec, semble-t-il, quelques améliorations de l'état général.



b) Les hormones génitales ont une influence plus manifeste.

Cu et grossesse.

Selon ROTTGER, l'augmentation du Cu sérique, progressive à partir du troisième mois de la grossesse, peut atteindre 280% de la valeur normale aux approches de l'accouchement.

THOMPSON et WATSON (1949), confirment ces résultats, notant d'autre part une élévation significative du Cu dans la pré-éclampsie ~~parturiente~~ (vers le 3ème mois).

Nous avons, pour notre part, retrouvé chez nos malades des cuprémies très élevées (aux alentours de 300 % /100 cc).

La cuprémie se normalise quelques semaines après l'accouchement. Le sang du cordon ombilical contient des quantités assez faibles de Cu, de l'ordre de 56 % /100 cc.

Nous avons vu, de plus, que la cuprémie, relativement basse à la naissance (75 à 85 %) atteint le taux de l'adulte vers la deuxième semaine (TURPIN, JEROME et Me SCHMITT-JUBEAU, 1953).

Ces mêmes auteurs ont pu obtenir une élévation de la cuprémie considérable après administration de diéthylstilboestrol, par cures de un mois, à plusieurs infantiles masculins. Le taux de la cuprémie s'élevait de 50 à 100 %, et se maintenait élevé 10 à 15 jours après la fin du traitement, se rapprochant ensuite lentement de la normale. Le taux de la siderémie restait normal chez ces enfants, durant la période du traitement.

Cette hypercuprémie n'évolue donc pas comme les hypercuprémies transitoires obtenues chez l'animal par administration orale ou veineuse de fortes doses de Cu.

Il convient plutôt de rapprocher cette hypercuprémie de celle observée au cours de la grossesse, et qui est peut-être en corrélation avec une hypersécrétion de stimulines hypophysaires.

SCHNETZ signalait déjà en 1936 l'action thérapeutique du cuivre sur la fonction sexuelle.

c) Pancréas : SCHNETZ, d'autre part, pensait que le cuivre exerçait une action catalytique vis à vis de l'insuline. Administrant 20 mg de Cu par jour, par voie buccale, dans plusieurs cas de diabète grave, il obtenait une diminution de la glycémie et de la glycosurie et une amélioration de l'état général des malades.



## VI - Cuivre et glandes endocrines.

### A - Thyroïde.

La cuprémie varie parallèlement à l'activité thyroïdienne : basse dans les hypothyroïdies, élevées dans les hyperthyroïdies.

Des dosages pratiqués au cours de diverses endocrinopathies infantiles, donnent les résultats suivants (TURPIN-JEROME, 1950) :

- myxoedème congénital : 55 % pour 100 cc ;
- adiposité hypothyroïdienne : 76 % ;
- myxoedème d'origine diencéphalohypophysaire : 58 % ;
- maladie de Basedow : 176 %.

Nous avons retrouvé des chiffres un peu plus élevés chez nos malades atteints de maladie de Basedow (190 % à 220 %). En cas de traitement par les antithyroïdiens de synthèse au cours des hyperthyroïdies, la cuprémie se normalise.

De même, l'emploi des extraits thyroïdiens ou de la thyroxine, au cours de l'hypothyroïdie, entraîne une augmentation de la cuprémie, qui atteint un taux voisin de la normale ou légèrement supérieur.

L'action particulièrement nette de la thyroïdectomie ou des goitrogènes, d'une part, et de l'hormone thyroïdienne, d'autre part, sur la cuprémie, fut étudiée chez l'animal, par LELOUP (1947).

Selon HEILMEYER et KEIDERLING (1941), une relation étroite existe entre le taux du Cu sérique et le métabolisme de base. Cette notion a été depuis vérifiée par différents auteurs, et il semblerait que le taux de la cuprémie soit un reflet aussi fidèle de l'activité thyroïdienne que le métabolisme basal.

On peut supposer que l'augmentation du métabolisme cellulaire nécessite la présence accrue des enzymes cupriques, et explique ainsi la mobilisation du cuivre, qui serait peut-être utile à la synthèse de l'hormone thyroïdienne.

### B - Autres glandes endocrines.

a) Les surrénales semblent avoir un effet beaucoup moins net sur la cuprémie, cependant, l'adrénaline élèverait le taux du Cu sérique.



## VII - Cu et Affections hépatiques.

### A - Cirrhoses.

Au cours des cirrhoses, l'augmentation du Cu hépatique a été notée comme un phénomène constant par les différents auteurs (MALLORY, ASCHOFF, etc.).

Par contre, l'hypercuprémie est inconstante et la sidérémie est le plus souvent normale, en dehors de toute complication (hémorragie, ictère ou infection).

Au contraire, la dyschromatose, ou cirrhose bronzée, s'accompagne habituellement d'une augmentation nette de la sidérémie, et d'une légère hypercuprémie.

### B - Ictères.

HUTTERER et HUNYA, après une étude portant sur 337 cas, concluent que les dosages du fer et du cuivre sérique représentent un précieux moyen de diagnostic entre les ictères épidémiques et les ictères rétentionnels.

a) au cours des hépatites épidémiques, le Fe sérique est augmenté alors que le cuivre sérique est normal ou à peine élevé. Le rapport Fe/Cu est aux environs de 1,5.

b) au cours des ictères par rétention, au contraire, le taux du Fe sérique est normal, alors que l'hypercuprémie est nette. Le rapport Fe/Cu est inversé (aux environs de 0,42).

| Ictères par Hépatite              | Ictères par rétention | Chiffres normaux. |
|-----------------------------------|-----------------------|-------------------|
| <u>Taux moyen de la sidérémie</u> |                       |                   |
| 207 pour 100 cc                   | 79 pour 100 cc        | 80-140            |
| <u>Taux moyen de cuprémie</u>     |                       |                   |
| 138 pour 100 cc                   | 190 pour 100 cc       | 90-130            |
| <u>Rapport Fe/Cu</u>              |                       |                   |
| 1,54                              | 0,42                  | 0,8-1,2           |



Les travaux de RECHENBERGER (1955) et de LAUDAHN (1954), confirment ces résultats. BRENDSTRUP (1953), insiste tout particulièrement sur l'élévation du fer sérique au cours de l'hépatite épidémique, qui est l'unique maladie infectieuse où l'on observe une hypersidérémie.

o

o

o



### VIII- Cuivre et dermatologie.

Il est bien établi actuellement que le cuivre intervient dans les processus de pigmentation, aussi bien chez l'homme que dans le règne animal.

Chez le lapin (SMITH et ELLIS, 1947), comme chez le rat (HUNDLEY, 1950), une carence en cuivre entraîne une achromotrichie, susceptible d'être améliorée par l'administration de cuivre.

Nous avons vu, d'autre part, en étudiant les symptômes de cette carence chez l'animal, que chez les ovins, la dépigmentation de la laine apparaît bien avant les troubles sanguins ou nerveux.

Une tyrosinase cupro-protéinique catalyse en effet les étapes enzymatiques de la formation des mélanines (GINSBURG, 1944). Cette tyrosinase, qui permet les oxydations successives de la tyrosine en D.O.P.A. (Dihydroxyphénylalanine) puis la D.O.P.A. en quinone, n'est active qu'en présence de son co-enzyme, qui précisément ne serait autre que la coeruloplasmine de HOLMBERG et LAURELL.

Des essais "in vitro", ont montré que les composés susceptibles de former des complexes avec le Cu inhibaient la mélanogénèse (citons les expériences de JUNG et GIGGELBURGER avec le thiouracile en 1948). Au contraire, l'action stimulante des radiations U.V. sur la mélanogénèse s'expliquerait par l'oxydation du cuivre et le blocage des groupements SH. Chez l'homme, YOSHIKAWA (1937) signale la teneur plus riche en Cu des cheveux noirs que des cheveux gris.

D'après PAULAIS et GRACIANSKI, les mélanodermies s'accompagnent toujours d'hypercuprémie.

- Mélanose de RIEHL : 195 γ %.
- Noeuvus pigmentaire étendu : 176 γ %.
- Maladie d'Addison : 178 γ %.

Dans l'albinisme, la cuprémie serait très basse (57 γ %), l'apport de Cu ne peut apporter d'amélioration : il s'agit vraisemblablement d'une absence congénitale de tyrosinase.

Par contre, des injections intraveineuses de monochlorure de Cu influenceraient remarquablement la repigmentation dans certains cas de vitiligo (STUTTGEN, 1955).



Ce traitement paraît être cependant difficile à appliquer, l'auteur signalant des cas d'intolérance avec manifestations allergiques (oedème de QUINCKE, exanthème bulleux).



## IX - Cuivre et système nerveux central.

Nous envisagerons principalement dans ce chapitre l'étude de la dégéné<sup>re</sup>scence hépato-lenticulaire, ou maladie de Wilson, dont la pathogénie semble être en rapport avec un trouble du métabolisme du cuivre dans l'organisme, et dont la connaissance a enrichi nos domées sur le métabolisme de cet oligo-élément.

### Historique.

En 1883, WESTPHALL décrit deux cas de "pseudo-sclérose". Après cette publication, d'autres auteurs, dont BABINSKI (1885) et STRUMPELL (1889) isolèrent de semblables observations.

En 1901, BAUMLIN note le caractère hérédofamilial de tels syndrômes.

En 1902, KAYSER observe la présence d'un anneau cornéen "vert-brun", chez un malade atteint, pensait-il, de sclérose en plaques.

En 1909, F~~EL~~ISCHER émet l'hypothèse d'un rapport possible entre cirrhose et anneau de KAYSER.

HOESSLIN et ALZEIMER décrivent, en 1912, les lésions anatomopathologiques de la pseudo-sclérose : ils observent "une dégénérescence des cellules ganglionnaires et une prolifération de la macroglie atteignant surtout le noyau lenticulaire et les structures avoisinantes."

C'est la même année que WILSON publie son mémoire original, qui est une remarquable étude anatomoclinique de l'affection qui porte son nom.

En 1920, SPIELMEYER ayant étudié plusieurs cas qui correspondent à la description de WILSON, retrouve les mêmes aspects anatomopathologiques que ceux décrits dans la pseudo-sclérose.

En 1921, HALL unit les deux affecti ns sous le nom de dégénérescence hépato-lenticulaire.

A partir de cette date, les travaux portent surtout sur l'étiologie et la pathogénie de cette maladie.

En 1930, KEHRER d'une part, publie une étude génétique de la maladie ; HAUROWITZ et LUTHEY, d'autre part, mettent en évidence une augmentation importante du taux du cuivre dans le foie et le cerveau des malades morts de DHL.

D'autres auteurs vérifient ces données, en particulier GLAZEBOOK et CUMINGS.



En 1948, UZMAN et DENNY-BROWN étudient les troubles du métabolisme du cuivre dans la DHL, et signalent la présence d'une aminoacidurie chez leurs malades.

En 1952 enfin, SCHEINBERG et GITLIN prouvent l'existence d'un déficit en caeruloplasmine dans la DHL.

#### Etiologie :

La DHL est une maladie rare, mais non exceptionnelle. Plus de 200 cas ont déjà été publiés.

Elle atteint les sujets jeunes des deux sexes, entre 15 et 30 ans surtout (mais un cas a été publié chez un enfant de 2 ans, un autre chez un sujet de 45 ans). Les formes précoces appartiennent au type WILSON, la pseudosclérose étant plus tardive.

D'après certains auteurs, les peuples Anglosaxons et Israélites seraient plus touchés par cette maladie que les latins.

Selon les statistiques, la D.H.L. apparaît familiale dans 55% des cas, et sporadique dans 45% des cas.

HALL en 1921 pensait qu'il s'agissait d'une maladie hérédo-familiale. HEHRER insiste sur cette opinion, et signale la particulière multiparité des familles atteintes.

La transmission serait du type récessif ; de plus, un gène récessif de chacun des parents serait nécessaire pour qu'apparaissent les signes cliniques de la maladie.

D'autre part, selon les statistiques de l'Institut ROCKFELLER de New York, la consanguinité des parents serait fréquente.

Enfin, dans les familles tarées on retrouve, d'après STADLER (1939) des troubles nerveux (dans 20% des cas), et digestifs (15%). VAN BOGAERT signale aussi la fréquence des tares psychiques ou mentales, et ALAJOUANINE a constaté plusieurs cas de cancers digestifs dans ces mêmes familles.

Par ailleurs, la recherche des troubles biochimiques chez les membres apparemment sains de famille de malades a donné des résultats assez discordants : on a pu retrouver dans certains cas des anomalies de la cuprémie, et UZMAN signale la présence d'une aminoacidurie significative chez 5 des 6 membres d'une fraterie atteinte. Il n'existe encore aucune donnée statistique sur les essais de traitement pratiqués dans ce cas.



### Etude clinique.

Nous empruntons ici largement à la thèse de doctorat de Monsieur William JAMES (Paris, 1959), portant sur l'étude de 4 cas de DHL chez les membres d'une même famille.

La conception actuelle de la DHL est celle d'une affection hérédofamiliale, qui associe à des troubles neurologiques, liés à des lésions prédominant sur le Striatum, une cirrhose hépatique habituellement latente, des troubles pigmentaires surtout oculaires et des troubles métaboliques.

La forme aigüe (maladie de WILSON) est rencontrée le plus fréquemment à l'âge pré-adolescent.

La forme chronique (pseudo-sclérose de WESTPHAL-STIRUMPELL) apparaît le plus souvent chez des adultes jeunes.

Certains auteurs considèrent comme faisant partie de la même entité :

- 1) le syndrome de TONI-DEBRE-FRANCONI, avec aminoacidurie massive, glycosurie, hypophosphatémie et augmentation des phosphatases alcalines.
- 2) L'aminocidurie idionathique juvénile, sans aucun symptôme clinique, apparaissant le plus souvent dans une famille dont certains membres sont atteints de DHL, et pouvant évoluer vers une forme plus grave.
  - a) Les troubles neuropsychiques décrits sont variés :
    - les tremblements (hyperkinésie volitionnelle) sont un des caractères communs aux deux formes de DHL.
    - La rigidité wilsonienne est à l'origine de dysarthrie et de la dysphagie.
    - L'oppositionisme se retrouve dans les renforcements spasmodiques de l'hypertonie wilsonienne, comme dans la gesticulation de la pseudo-sclérose.
    - Les troubles psychiques sont habituels dans les deux formes :
      - de petits mouvements athéroïdes ou choréiformes sont parfois observés;
      - les signes pyramidaux sont classiquement absents.
  - b) Troubles hépatiques:

Il existe une cirrhose le plus souvent asymptomatique. On retrouve parfois la notion d'un ictère passager, de crises douloureuses abdominales ou d'hémorragies discrètes. Mais l'interrogatoire peut ne rien révéler. Hépatomégalie et splénomégalie sont inconstantes. Les tests hépatiques sont plus ou moins modifiés, les perturbations portant surtout sur le rapport sérine/globuline.



Formes cliniques :

- l'atteinte hépatique peut cependant dominer la symptomatologie comme dans la forme décrite par KEHRER sous le nom "d'abdominal Wilson", dans laquelle la rapidité de l'évolution ne laisse pas aux signes nerveux le temps de s'extérioriser. Les formes ascitiques sont alors les plus fréquentes (le diagnostic porté étant souvent celui de péritonite tuberculeuse).
- Une forme splénomégaly a été aussi décrite, qui associe à une grosse rate des signes hématologiques du type "hypersplénisme" qui peuvent précéder de plusieurs mois à plusieurs années l'apparition des signes nerveux.
- Enfin, les auteurs allemands ont décrit des formes purement neurologiques, sans aucune atteinte hépatique décelable même à l'examen histologique.

c) Signes pigmentaires :

- Anneau cornéen de KAISER-FLEISCHER.

Il se retrouve dans 60 à 80% des cas, selon les différents auteurs.

Il apparaît le plus souvent avant les signes nerveux, et on le retrouve dans les formes purement abdominales de la maladie ou il prend toute sa valeur diagnostique. Il est visible à l'oeil nu, sous forme d'une bande circulaire vert-brun de 1 à 3 mm de largeur, à la périphérie de la cornée. Cet anneau siège à la face postérieure de la membrane de DESSEMETTE, au contact de l'endothélium ; il est formé de petits grains pigmentés, arrondis, juxtaposés. La bilatéralité est de règle.

- D'autres modifications oculaires ont été décrites : pseudo-c<sup>at</sup>acte très rare et très tardive, décrite uniquement dans le Westphall-Strumpell ; pigmentation de la sclérotique entourant le limbe ; pigmentation de la rétine. Et même quelques cas d'héméralopie par dégénérescence rétinienne, avec un taux de vitamine A normal, et une évolution non influencée par la thérapeutique vitaminée habituelle.

- La pigmentation cutanée est plus rare que celle de la cornée. On retrouve parfois de larges taches brunâtres ou gris-ardoisé prédominant sur les parties découvertes.

D'autre part, on retrouverait assez souvent à l'autopsie des sujets morts de DHL une pigmentation viscérale.

d) Manifestations osseuses :

Ces manifestations osseuses, de constatation récente, présentent un grand intérêt - Monsieur F. YING-K'UN (1957) est allé jusqu'à dire que



nous devons orienter nos recherches vers l'étude du Ca et du P sanguins dans la maladie de WILSON. Il signale que 3 malades (d'une série de 10) avaient un bilan calcique négatif.

Des manifestations osseuses à type d'ostéoporose ont été décrites, avec possibilité de fractures spontanées (WARNOCK, Von ECONOMO, KEHRER, LUTHY). FINBY et BEARN (1958), au cours d'une étude portant sur 20 cas de D.H.L., n'ont trouvé que 6 malades présentant des structures osseuses normales.

Rappelons ici les expériences de BAXTER (1953) sur de jeunes chiens soumis à un régime carencé en cuivre (qui entraînait une ostéoporose diffuse avec anomalies de la zone périostique) ; ainsi que les constatations d'ostéoporose (CUNNINGHAM, Baltimore, 1950) chez des moutons carencés en Cu.

#### Etude des troubles métaboliques.

L'hypothèse d'une trouble du métabolisme du cuivre dans la DHL est déjà ancienne : RUTPELL (1913) avait déjà signalé la surcharge en Cu du foie et du rein au cours de la maladie.

Mais les travaux essentiels sont ceux de HAUROWITZ, LUTHY, GLAZEBROOK et CUMMINGS (1950) : le foie contient 4 à 15 fois plus de Cu que normalement ; le cerveau et en particulier les noyaux gris centraux, 6 à 8 fois plus.

En outre, tous les organes présentent une surcharge cuprique plus ou moins forte à l'exception cependant du coeur (CARTWRIGHT). Cette surcharge viscérale, malgré l'élimination urinaire accrue de Cu est due au fait que ces malades absorbent plus de 50% de Cu ingéré.

La cuprémie, par contre, est variable et moins significative :

- GLAZEBROOK (1945, CUMMINGS (1951), trouvent une hypercuprémie.
- BRINTON (un cas, 1947), MATHEWS (2 cas, 1952), trouvent une cuprémie normale.
- BEARN (1953, 17 cas) trouve une hypocuprémie chez 15 malades, une cuprémie normale dans les deux derniers cas.
- Coeruloplasmine (& globuline).
- SHEINBERG et GITLIN signalent pour la première fois en 1952 le taux très bas de coeruloplasmine dans la D.H.L.
- BEARN et KUNKEL (1955) mesurant par des méthodes spectrophotométrique et immunochimique l'activité oxydasique du sérum (qui est proportionnelle au taux de coeruloplasmine) la trouvent très diminuée dans le DHL.



- SHEINBERG et MOREL, enfin (1957) au cours de recherches, avec du Cu 64, ont établi que la moitié environ des 8 atomes de Cu présents dans la molécule de caeruloplasmine étaient capables de s'échanger avec Cu 64 en présence d'acide ascorbique.

- WINTROBE, qui avait trouvé une fuite rénale de caeruloplasmine au cours de syndromes néphrotiques, n'a jamais pu au contraire retrouver de caeruloplasmine dans les urines des malades atteints de DHL.

A côté de la caeruloplasmine, on sait qu'une faible partie du Cu plasmatique est liée à d'autres protéines (albumines, acides aminés libres, ou sidérophiles) tandis qu'une autre portion "diffusible" n'est pas liée aux protéines et serait responsable de l'augmentation du taux du cuivre dans le L.C.R. et dans les tissus.

Le Cu 64 a permis de préciser les anomalies du métabolisme cuprique dans la DHL.

Administré per os ou par voie veineuse, il reste chez les Wilsoniens fixé sur les albumines, alors que normalement il est à la 24ème heure presque totalement fixé sur les globulines.

La chute de la radioactivité du sérum est plus lente que normalement mais on n'observe pas la réascension normale de la courbe entre la 2ème et la 4ème heure.

L'excrétion urinaire du Cu 64 est beaucoup plus importante chez les malades, mais l'absorption intestinale est aussi plus importante que chez les témoins, ce qui explique que le bilan cuprique reste positif.

Le Cu est le seul métal éliminé en excès dans la DHL. Par spectrographie, BEARN et KUNKEL (1955) ont vérifié l'absence dans les urines de Fe, Co, Ni et Zn.

#### Etude des acides aminés dans la DHL.

Depuis les travaux d'UZMAN et DENNY-BROWN, l'hyperaminoacidurie est devenue un élément essentiel du diagnostic de DHL. Toutefois, l'aminocidémie est normale dans la DHL, ce qui élimine le rôle possible de l'insuffisance hépatique à l'origine de l'hyperaminoacidurie.

Cette hyperaminoacidurie est considérable : 800 à 2 000 mg par jour selon les malades et les techniques de dosage.

La chromatographie montre qu'elle est généralisée, tous les acides se trouvant normalement dans les urines sont présents à des taux élevés, mais au lieu des 4 ou 5 taches habituelles, il en existe 10 à 12, du fait



des acides aminés qui sont ordinairement éliminés en trop faible quantité pour être révélés par une trace visible à la chromatographie (exemple : acide aspartique, glutamique, lysine, arginine, cystine, théonine, ornithine) et aussi du fait de la présence d'acides aminés qui n'existent pas habituellement chez les sujets sains (exemple : proline, citruline).

L'excrétion de taurine et de 1-3 méthylhistidine serait au contraire diminuée.

Cette hyperaminoacidurie massive et généralisée varie beaucoup d'un jour à l'autre, ce qui expliquerait certains résultats paradoxaux.

Pour BEARN, KUNKEL et STEIN, elle dépendrait de la composition protidique du régime (qui ne modifie pas par ailleurs l'acidoacidurie du sujet sain).

UZMAN a insisté sur la peptidurie, avec excrétion d'oligopeptides (formés surtout à partir d'acides aspartique et glutamique) qui jouent un grand rôle dans sa conception pathogénique de la DHL et lui paraît spécifique.

D'après DENT, HARRIS et BICKEL, dans de très rares cas l'hyperaminoacidurie peut manquer.

Par contre, il existe la possibilité d'une aminoacidurie isolée chez des sujets apparemment sains de famille tarées.

Il paraît bien établi actuellement à la suite des recherches de COOPER, de MATHEWS et de BEARN que cette aminoacidurie soit due à une anomalie probablement congénitale des tubes contournés entraînant un défaut de réabsorption tubulaire des acides aminés.

Dans d'autres cas, la détérioration des fonctions tubulaires semble progressive, et le dépôt excessif du Cu dans le parenchyme rénal a pu être incriminé comme cause.

D'autres anomalies urinaires, traduisant également un trouble de la réabsorption tubulaire ont aussi été constatées : une hyperphosphaturie et une glycosurie sont signalées dans certains cas de DHL, avec une phosphatémie et une glycémie normales ; chez ces malades, il y aurait une augmentation de la clairance à l'inuline. Le rapport clairance inuline sur clairance du phosphate ( $C_{in}/C_{Po4}$ ) indiquerait le degré de sévérité du défaut de réabsorption des phosphates.

#### Etude des aminoaciduries d'autres origines.

##### 1) Aminoaciduries d'origine hépatique :

Dans les maladies du foie, le taux des acides aminés urinaires est



augmenté, mais de façon très inconstante.

Les techniques chromatographiques et microbiologiques permettent de mettre en évidence le spectre des acides aminés individuellement dans le sang et dans les urines.

Ainsi, par des méthodes microbiologiques, certains auteurs ont trouvé une augmentation du taux de la méthionine dans les atteintes hépatiques sans qu'il y ait participation des autres acides aminés essentiels ; cette aminoacidurie isolée semble n'avoir que peu d'intérêt diagnostic ou pronostic.

Le dosage de la tyrosine urinaire serait, par contre, une méthode simple et pratique pour évaluer le degré de l'atteinte hépatique : elle traduirait, en effet, l'autolyse du parenchyme hépatique. Son taux est élevé aussi bien dans le cancer du foie, par exemple, que dans les lésions de cholestases d'origine extra-hépatique.

## 2) Aminoaciduries d'origine rénale.

HARRIS et coll. (1957), classent dans cette catégorie la cystinurie, d'une part, et la maladie de HARTNUP d'autre part, décrite en 1956 par DENT, BARON et coll. et qui consiste en l'association d'une aminoacidurie constante, avec d'autres anomalies biochimiques, une ataxie cérébelleuse, et une éruption cutanée ressemblant à la pellagre.

Dans la cystinurie comme dans la maladie de HARTNUP, la dysfonction tubulaire rénale est constante, et dure probablement toute la vie.

## Evolution et pronostic de la DHL.

L'évolution est très variable : d'une façon générale, la maladie de WILSON évolue en moins de 3 ans, tandis qu'au cours de la pseudosclérose, des survies de 15 à 20 ans sont fréquentes.

L'évolution est progressive, mais se fait par poussées spontanées ou déclenchées par un épisode intercurrent. La mort survient le plus souvent à la suite d'une affection ou dans un tableau d'insuffisance hépatique terminal.

Les thérapeutiques actuelles de déplétion cuprique (B.A.L.) peuvent apporter des améliorations notables mais transitoires, et il ne semble pas que le pronostic à lointaine échéance soit encore modifié.

## Etude anatomopathologique de la D.H.L.

### 1 - système nerveux :

L'opposition entre la maladie de WILSON et la pseudosclérose sur le plan anatomique n'est absolue que dans les cas typiques. La topo-



graphie des lésions est semblable : noyaux gris centraux surtout, mais aussi région sous-thalamique, noyaux dentelés, écorce cérébelleuse et hémisphérique; macroscopiquement, on constate un aspect fendillé de la substance cérébrale ou parfois un aspect spongieux ou kystique. Microscopiquement : présence de cellules d'Alzheimer contenant des granulations cupriques abondantes, mises en évidence par des colorations spéciales (acide rubéanique, rhodanine).

## 2 - Foie.

La cirrhose de la DHL est une cirrhose atrophique à grosses nodosités. A la coupe, le foie est morcelé en ilots par des bandes plus ou moins épaisses de sclérose. Microscopiquement, on constate une importante vascularisation traduisant une régénération parenchymateuse, des plages de stéatose, parfois aussi des plages nécrotiques ou des aspects de remaniements kystiques.

## Pathogénie de la DHL.

Dans la conception actuelle, deux théories s'affrontent:

1 - Pour les uns, le trouble essentiel serait la carence en coeruleoplasmine, dont le défaut de synthèse serait congénital d'où une augmentation considérable de l'absorption intestinale du Cu (cette absorption étant normalement réglée par le taux de saturation de la coeruleoplasmine).

Les lésions hépatiques, cérébrales, l'aminoacidurie et les peptides anormales seraient toutes la conséquence d'une intoxication progressive par le Cu, et l'élimination massive de Cu dans les urines serait due à l'excès de Cu dans les tissus, et à l'impossibilité de résorption de ces complexes peptides-Cu par le rein, par suite de lésions tubulaires rénales.

2 - Pour les autres et d'après UZMAN, le trouble essentiel serait une anomalie du métabolisme protidique, vraisemblablement génétique.

Elle aboutit à la formation de molécules protidiques anormales ayant une affinité élective pour le Cu. Cet auteur a mis en évidence par électrophorèse, dans le foie d'un malade atteint de DHL, une protéine anormale ayant cette affinité pour le cuivre.

PORTER et FOLCH (1957) ont trouvé également une combinaison anormale Cu-peptide, dans le cerveau de sujets atteints de DHL.

## Cu dans les autres affections neuropsychiques.

Des dosages de Cu sérique ont montré :

- une cuprémie sensiblement normale chez les choréiques (122  $\gamma$ %) ainsi que dans la sclérose en plaques (97 et 118  $\gamma$ %) en cours de poussée



évolutive dans deux cas différents.

- Le Cu sanguin est légèrement élevé dans le Parkinson post-encéphalitique et dans les syndrômes Parkinsoniens (MATTHEWS, 1954).

Par contre, il est abaissé dans l'arriération mongolienne, ne dépassant pas 70 % (TURPIN et coll. , 1952).

=====



O B S E R V A T I O N S  
=====



Nous publierons enfin, pour terminer cette étude, quelques observations cliniques recueillies à l'Hôpital BICHAT au cours de l'année 1960, grâce à l'obligeance des différents chefs de service auxquels nous nous sommes adressés : Messieurs les Docteurs Ch. DEBRAY, H.P. KLOTZ, A. LAMBLING et M. PESTEL.

Ces observations concernent quelques malades hospitalisés, chez lesquels les dosages de la cuprémie et de la sidérémie ont pu donner une orientation diagnostique ou pronostique.

Dans d'autres cas, l'interprétation d'un chiffre anormal de cuivre sérique a pu être plus difficile : nous n'avons d'autre désir que d'illustrer ici par quelques exemples pratiques les notions que nous avons essayé d'exposer dans les chapitres précédents.

Les dosages ont été effectués par la méthode de PETERSON modifiée par C. BOHUON, que nous avons exposée précédemment, et ont été réalisés à la Pharmacie Centrale de l'Hôpital BICHAT, grâce à la bienveillance de Monsieur DOURIS, chef du Laboratoire Central de Biochimie Médicale.

- A - Dans tous les cas de néoplasie, nous avons enregistré des taux extrêmement élevés de cuivre sérique, associés à des taux de sidérémie ~~considérablement~~ sensiblement normaux ou plus ou moins diminués selon le degré d'anémie :

1. Madame A.... Germaine, 74 ans,

était envoyée par son médecin pour une tumeur connue : il s'agissait d'un squirrhe atrophique du sein gauche, évoluant depuis environ dix ans, qui venait de se compliquer récemment par l'apparition d'une métastase osseuse vertébrale, située à la hauteur de D8 - D9.

Cette malade était arrivée extrêmement amaigrie, et souffrant de douleurs dorso-lombaires telles que la marche lui était devenue impossible.

Des investigations radiologiques et biologiques furent faites et un essai de traitement mis en oeuvre.

Le diagnostic était ici évident et le taux du cuivre sanguin atteignait 209  $\mu$  pour 100 cc de sang, tandis que la sidérémie restait normale (105  $\mu$ ).

2. Madame S.... Marcelle, 51 ans,

Cette malade fut hospitalisée en décembre 1960 pour une baisse de l'état général et amaigrissement, s'accompagnant d'une ascite importante, sans antécédents notables.



L'interrogatoire révéla la notion d'une dysménorrhée antérieure évoluant depuis plusieurs années, avec cycles longs (35 à 40 jours) qui avait été régularisée quelques temps sous l'influence d'un traitement hormonal mais était réapparue depuis plus d'un an.

L'ascite, assez importante à son entrée, avait commencé à se constituer trois mois auparavant.

L'examen de cette malade montra l'existence d'un utérus rétroversé, et d'une masse dure et irrégulière située en arrière et à droite, qui fit émettre l'hypothèse d'une tumeur d'origine probablement ovarienne.

L'étude cytologique du liquide d'ascite confirma le diagnostic de tumeur maligne : Cyto diagnostic positif.

Papanicolaou : classe 4, en faveur d'un épithélioma glandulaire sécrétant. Parallèlement, le cuivre sanguin était augmenté à 195  $\mu$  %, avec une sédérémie à 97  $\mu$  .

L'intervention montra, en effet, l'existence d'une tumeur végétante de l'ovaire droit, qui fut libérée et extirpée après évacuation de l'ascite et complétée par une hystérectomie subtotale.

L'examen histologique pratiqué précisa le diagnostic d'épithélioma végétant de l'ovaire.

3. Monsieur M.... Krébos, âgé de 69 ans,  
fut hospitalisé en janvier 1960 pour sciatalgies et lombalgies droites, apparues depuis un mois environ, et s'accompagnant d'une altération de l'état général, d'un amaigrissement de 6 à 7 kgs en un mois, et d'une asthénie marquée. L'interrogatoire et les examens pratiqués ne révélèrent au premier abord, que l'existence d'une importante hépatomégalie avec un léger subictère, les tests hépatiques étant sensiblement normaux.

Le taux de la cuprémie s'élevait chez ce malade à 243  $\mu$  pour cent, tandis que la sidérémie était abaissée à 32  $\mu$  %, corrélativement à une anémie à 3 550 000 globules rouges et 56% d'hémoglobine.

Parmi les autres examens pratiqués, seule l'électrophorèse était nettement perturbée, avec abaissement des protides - taux à 64 g%, diminution du taux de l'albumine et augmentation des  $\alpha$  2 et des  $\gamma$  globulines.

Les radiographies lombaires ne montraient qu'un léger pincement de L4 - L5. Le chiffre élevé de la cuprémie fit, dans ce cas, soupçonner l'existence d'une néoplasie qu'on pensa, vu le contexte clinique, localisée au foie. C'est avec ce diagnostic probable qu'on laissa sortir le malade un mois plus tard, devant une amélioration de l'état général.

En Avril 1960, ce même malade fut à nouveau admis pour une poussée évolutive d'une tuberculose pulmonaire ancienne et connue : il ne devait



survivre que peu de temps, et l'examen nécropsique pratiqué révéla l'existence d'une tumeur maligne du blastème rénal du type tumeur de Wilms, avec métastase osseuse vertébrale, tandis que le foie était, au contraire, sensiblement normal.

Si, dans cette observation, le diagnostic de localisation fut cliniquement ignoré, il est à remarquer que le taux de la cuprémie fit, associé à l'altération de l'état général, suspecter à juste titre l'existence d'un cancer.

Ajoutons à ces observations que, dans les cas de tumeur maligne, des examens répétés de la cuprémie donnent un reflet de l'évolutivité du néoplasme, et ont permis dans nombre d'observations de laisser prévoir l'apparition d'une métastase.

B - Dans les cas d'infection, le taux du cuivre sanguin est toujours augmenté, mais se trouve à des taux moins élevés que dans les cas de tumeurs malignes (il est ici aux environs de 160  $\gamma$ , alors que dans les cancers, il dépasse habituellement 200  $\gamma$ ).

1. Citons l'histoire clinique banale de Monsieur H... Louis, 74 ans, hospitalisé en Janvier 1960 pour un épisode pulmonaire aigu avec hyperthermie et prostration chez un ancien bronchiteux chronique.

L'examen révèle une matité franche de tout l'émithorax gauche, avec atténuation des vibrations vocales, et de gros râles humides inspiratoires et expiratoires. Le malade tousse et expectore abondamment.

La radio montre des signes parenchymateux, avec une réaction pleurale gauche, prouvée par la ponction qui ramène un liquide purulent.

Les investigations sont poursuivies en vue d'élaborer un diagnostic étiologique, et on peut relever ici, avant l'institution de tout traitement, une cuprémie à 162  $\gamma$  %, avec une sidérémie normale à 116  $\gamma$  %.

Parallèlement, la numération globulaire montre une leucocytose à 30 000 globules blancs, avec 94% de Poly-neutrophiles.

Le diagnostic finalement retenu comme le plus probable fut celui de pneumonie atypique avec épanchement réactionnel.

2. Madame S... Louise, 75 ans,

est admise en Janvier 1960 pour des douleurs intermittentes et transfixantes de la région lombaire droite, apparues trois mois auparavant, et compliquées par l'apparition récente de signes digestifs : diarrhées, vomissements et douleurs abdominales diffuses à maximum hypogastrique.

Une température à 38° - 38°5 et une leucocytose modérée à 10 000 globules blancs accompagnaient ces signes cliniques.



Devant la notion d'antécédents lithiasiques (ayant nécessité quinze ans plus tôt la cholecystectomie), la constatation d'une pléthore notable, d'une certaine polyphagie, d'une légère glycosurie, et d'une amylasémie à 927 unités, et en considération du caractère transfixiant des douleurs, on s'arrêta finalement au diagnostic de pancréatite.

Chez cette malade, on trouva :

- une sidérémie à 90 %.
- une cuprémie augmentée à 165 %.

3. Chez Madame C... Suzanne,

au cours d'un rhumatisme infectieux, sévère, en poussée évolutive, avec une vitesse de sédimentation accélérée (95-124), le dosage de la cuprémie indique un taux élevé à 216 %.

On pourrait ainsi multiplier à l'infini les observations de cas infectieux, au cours desquels le taux de la cuprémie est constamment élevé, à peu près parallèlement au chiffre de la leucocytose sanguine.

C - Au cours des Anémies, nous avons vu que le taux de cuivre sérique pouvait être normal ou élevé, et nous avons distingué :

1) les anémies avec sidérémie basse :

- cuprémie normale dans l'anémie ferriprive,
- cuprémie élevée au cours des anémies infectieuses, cancéreuses, leucémiques, et après hémorragies.

2) Les anémies avec sidérémie normale :

- cuprémie normale dans l'anémie de Biermer,
- cuprémie élevée en cas d'anémie hémolytique ou nouveau-né, et dans la thalassémie.

Le cas que nous rapportons à titre d'exemple est celui de

- Mademoiselle D... Annette, âgée de 22 ans.

Chez cette malade, le taux du fer sanguin était de 70 % tandis que la cuprémie s'élevait à 145 %.

Cette jeune fille, sténo-dactylo, avait eu à plusieurs reprises des poussées d'anémie se manifestant en quelques jours par une chute brutale du nombre des globules rouges (passant de 4 millions environ à 2 millions 800 000, par exemple).

Puis, tout rentrait dans l'ordre.

L'étiologie de ces crises de déglobulisation restait mystérieuse. La valeur globulaire était assez bonne habituellement, mais semblait diminuer d'un épisode à l'autre, de même le taux de l'hémoglobine.

L'absence de tout signe clinique ou biologique d'accompagnement



fit errer le diagnostic pendant plus de deux ans.

Finalement, en 1960, on découvrit l'image radiologique indiscutable d'un ulcère siégeant à la base du bulbe duodénal. On retrouva alors, à postériori, la notion de petites crises douloureuses et de selles noires (mais sans melena vrai).

Il s'agissait donc d'une anémie due à de petites hémorragies répétées, avec, corrélativement, une sidérémie basse et une cuprémie élevée.

D - Dans le cas d'ictères par hépatite, rappelons que le taux du fer est très augmenté tandis que le taux du cuivre est sensiblement normal ou légèrement augmenté, contrairement à ce qui se passe au cours des ictères par rétention.

C'est ce que nous avons constaté chez :

- Madame S... Françoise, qui présentait des signes évidents d'ictères infectieux, avec tests hépatiques perturbés et température à 39°, sans aucune notion de lithiase et chez qui on retrouva :

- une sidérémie à 365  $\gamma$  %.

- et une cuprémie à 160  $\delta$  %.

- Dans un cas de cirrhose éthylique grave, avec ascite, chez Monsieur S.... Léon (malade atteint, par ailleurs, d'un léger diabète bien équilibré) les dosages effectués ont montré une hypocuprémie importante et une sidérémie très légèrement abaissée :

- Cu = 34  $\gamma$  %, et Fe = 81  $\gamma$  %.

Il nous a semblé, en outre, que le taux du cuivre sanguin soit très inconstant au cours des cirrhoses, où il peut être soit légèrement augmenté, soit normal, soit abaissé selon les cas.

E - Dans les affections thyroïdiennes, nous avons vu que les variations du taux de la cuprémie sont à peu près parallèles à celles du métabolisme basal.

- Le cas de Madame D... Berthe,

est celui d'une hyperthyroïdose, avec amaigrissement, tremblements des extrémités, tachycardie légère à 90 Pulsations/mn, mais sans exophtalmie, et avec une thyroïde peu augmentée de volume. Le métabolisme basal est légèrement augmenté (de 14% au repos, et 8% sous nembutal).

Il s'agit d'une hyperthyroïdie débutante sans maladie de Basedow caractérisée. On retrouve chez cette malade une cuprémie à 162  $\delta$  %, et une sidérémie à 178  $\gamma$  %.



F - Citons enfin les chiffres élevés de cuivre sérique enregistrés chez deux de nos malades et imputables dans chacun des cas à une grossesse en cours :

1. Madame G... Rolande :

Grossesse de deux mois et demi, évoluant normalement.

Fe = 95  $\gamma$  %, et Cu = 327  $\gamma$  %.

2. Madame O... Aurosa :

Grossesse de un mois et demi, bien supportée :

Fe = 121  $\gamma$  % et Cu = 253  $\gamma$  %.

Nous avons vu, en effet, qu'au cours de la gestation, le cuivre sanguin atteint un taux élevé qui se maintient jusqu'à l'accouchement.

Nous n'avons pas eu par ailleurs, l'occasion de recueillir d'observations cliniques au cours de la maladie de Wilson.

Nous désirions surtout donner ici un aperçu de l'intérêt pratique du dosage cuprique en médecine courante.

-:::-



## CONCLUSIONS

Parmi les oligo-éléments, le Fer et le Cuivre jouent un rôle important. L'étude biochimique du cuivre s'est beaucoup développée ces dernières années.

1. Dans le domaine agronomique, où l'on a étudié avec précision l'effet de la carence en cuivre de certains terrains sur le développement des plantes et où l'on a constaté l'amélioration du rendement par addition de sulfate de cuivre aux sols cultivés.
2. Dans le domaine vétérinaire, où l'on a défini les effets de la carence cuprique chez l'animal ainsi que les effets du traitement par les sels de cuivre.
3. L'expérimentation chez l'animal a permis de développer nos connaissances sur le métabolisme du cuivre, surtout depuis l'emploi du cuivre radioactif.
4. Des méthodes diverses de dosage du cuivre dans les tissus et dans les liquides biologiques ont été mises au point. Ce sont des méthodes physiques : spectrophotométrie et polarographie, et des méthodes chimiques, basées sur des réactions de colorimétrie.

Une méthode colorimétrique d'application pratique relativement simple a été décrite : elle utilise comme réactif la biscyclohexanone oxalyldihydrazone en solution hydroalcoolique.

Ce procédé ne nécessite qu'un ml de sérum ou de plasma.

5. Chez l'homme, les résultats de dosages ont indiqué un taux constant du cuivre sérique, aux environs de 105  $\gamma$  pour 100 cc de sang.

Le cuivre a été dosé aussi dans les tissus : le foie est le principal organe de réserve.

6. Dans certaines conditions physiologiques - gestation en particulier, le taux du cuivre sanguin est susceptible de se modifier.
7. Les variations pathologiques du taux de la cuprémie ont été étudiées. Retenons que :

- au cours des diverses anémies, le taux du cuivre peut être normal ou augmenté selon les cas.
- au cours des maladies infectieuses, le taux de la cuprémie est constamment augmenté.
- au cours des affections thyroïdiennes, le taux de la cuprémie est



parallèle au métabolisme de base.

- au cours des ictères infectieux, la sidérémie est très élevée et la cuprémie est basse, contrairement à ce qui se passe au cours des ictères par obstruction.

- au cours des processus de pigmentation cutanée, le taux de la cuprémie suit celui de la mélanine.

- dans les néoplasmes, le taux du cuivre sanguin est considérablement augmenté et ses variations donnent une idée de l'évolutivité de la tumeur.

8. L'étude de la maladie de Wilson, enfin, a fait avancer considérablement les recherches sur le cuivre, puisque cette affection est liée spécifiquement à un trouble du métabolisme de cet oligo-élément.

9. Le dosage de la cuprémie en médecine courante pourrait, dans bien des cas, donner de précieuses indications diagnostiques et pronostiques.

==:==:==:==:==:==:==:==:==



Vu :

Le Doyen,  
Léon BINET

Vu :

Le Président de Thèse,  
Charles DEBRAY

Vu et permis d'imprimer.

Paris, le Mars 1961 .

Le Recteur de l'Académie de Paris,  
Jean SARRAILH



I. Références Agronomiques et Vétérinaires.

- AGRICULTURAL GAZETTE.

"Steely" wool caused by copper deficiency.  
N.S.W., 58, 99 & 106 (February 1947)  
(et Nutr. abs. & rev., 17, 551).

- ALLISON (R.V.), BRYAN (O.C.), HUNTER (J.H.).

The stimulation of plant response on the raw plat soils of the Florida Everglades through the use of copper sulfate and other chemicals.  
Florida. Agr. Exp. Sta. Bull., n° 190 (1927).

- ARNON (D.I.), STOUT (P.R.).

The essentiality of certain elements in minute quantity for plants, with special reference to copper.  
Plant Physiol. 14, 371.

- BARCELO (J.M.P.), MANRIQUE (J.B.A.), MORENO (C.L.).

Phénomènes de carence dans les racines de belladone in vitro.  
Bull. soc. chim. Biol. 34, 1106-11 (1952).

- BAILEY (L.F.), Mc HARGUE (J.S.).

Copper deficiency in tomatoes.  
Amer. J. Bot. 30, 558-63 (1943).

- BECK (A.B.) (1).

Studies on copper content of milk of sheep and of cows.  
Australian J. exper. biol. med. sci. 19, 145-50 (June 1941).

- BECK (A.B.) (2).

The copper content of the liver and blood of some vertebrates.  
Austral. J. Zool. 4, (1), 1-18 (1956).

- BECK (A.B.), BENNETTS (H.W.), HARLEY (R.), EVANS (S.T.).

"Falling Disease" of Cattle in the South-West of Western Australia - 2 -  
Studies of copper deficiency in cattle.  
Austr. vet. J; 17, 85-93 (Juin 1941).

- BENNETTS (H.W.), BECK (A.B.), HARLEY (R.).

The pathogenesis of "falling disease".  
Austral. Vet. J. 24, 237-44 (1948).

- BENNETTS (H.W.), HALL (H.T.B.).

"Falling disease" of cattle in the south-west of western Australia.1.  
Austral. Vet. J; 15, 152-59 (August 1939).

- BENNETTS (H.W.), HARLEY (R.), EVANS (S.T.).

Studies on copper deficiency or cattle : the fatal termination ("falling disease").  
Austral. Vet. J; 18, 50-63, (April 1942).

- BOLL (W.G.), STREET (H.E.).

Studies on the growth of excised roots. I. The stimulatory effect of molybdenum and copper on the growth of excised tomato roots.  
New Phytologist. 50, 52-75 (1951).



- BOULD (C.), NICHOLAS (D.J.D.), TOL HURST (J.A.H.) (1), WALLACE (C.B.E.).  
Copper deficiency of fruit trees in Britain.  
Nature, 165, 920-1, (10 June 1950).  
(Soils & Fert. XVI, n° 4, 262).
- BROWN (J.C.).  
Some observations on the reduction of 2,3,5 triphenyltetrazolium chloride in plant tissue, as influenced by mineral nutrition.  
(U.S. Dep. Agric. Beltsville Med.).  
Plant Physiol. (U.S.A.). 29, (1), 104-7, (1954).
- BUTLER, LILLIAN (I.), ALLEN (H.O.)  
Report on copper and cobalt in plants.  
J. Assoc. official agric. chem. 25, 567-73 (1942).
- COMAR (C.L.), DAVIS (G.K.), SINGER (L.).  
The fate of radioactive copper administered to the bovine.  
J. Biol. chem. 174, 905-14 (1948).
- COPPENET (M.), CALVEZ (J.).  
Sur l'origine de la carence en cuivre des sols de Bretagne.  
C.P. Acad. des Sci. Fr. (Paris). 241, (16), 1068-70 (17 octobre 1955).
- CONNINGHAM (I.J.).(3)  
in "copper metabolisms".  
(H.D. Mc Elroy & B. Glass Editors). John Hopkins (Baltimore), (1950).
- DALLING (T.).  
Enzootic ataxia or swayback of lambs in England in relation to copper feedings of ewes during pregnancy.  
Proceed. of the Nutrition Soc. 1, 194-5, (1944).
- DICK (A.T.) (1).  
The effect of diet and of molybdenum on copper metabolism in sheep.  
Australian Vet. J. 28, 30 (1952).
- DICK (A.T.) (2).  
The effect of inorganic sulphate on the excretion of molybdenum in the sheep.  
Australian Vet. J. 29, 18-26 (January 1953).
- DICK (A.T.). (3).  
Influence of inorganic sulphate on the copper-molybdenum interrelationship in sheep.  
Nature, 172, 637-8 (1953).
- DICK (A.T.). (4).  
Doctoral thesis.  
University of Melbourne (Australia), (1954).
- DICK (A.T.) (5).  
Preliminary observations on the effect of high intakes of molybdenum and of inorganic sulphate on blood copper and on fleece character in cross-bred sheep.  
Australian Vet. J. 30, 196-202. (1954).



- Mc DOUGALL (E.I.). (1).  
The variation in the copper content of the blood of normal sheep.  
J. Agr. Sci. 37, 329-336 (1947).
- Mc DOUGALL (E.I.). (2).  
The copper, iron and lead contents of a series of livers from normal foetuses and new-born lambs.  
J. Agr. Sci. 37, 337-41 (1947).
- DUNLOP (G.).  
Effect of a copper supplement to the rations of milking cows.  
Nature, 171, 356-7 (1953).
- EDELL (A.). (1).  
Observations on copper poisoning.  
J. Comp. Pathol. Therap. 53, 90-111 (1940).
- EDELL (A.). (2).  
Blood copper of ewes during pregnancy.  
Biochem. J. 35, 313-15 (1941).
- Mc ELROY (W.D.), and GLASS (B.).  
"Copper metabolism. A symposium on animal, plant and soil relationship"  
Johns Hopkins Press, Baltimore, 1950.
- GILBERT, SEYMOUR (C.), HAROLD, SELL (M.), DROSDOFF (M.).  
The effect of copper deficiency on the nitrogen metabolism and oil synthesis of the tung tree.  
Plant. Physiol. 21, 290-303 (1941).
- GERRITSEN (H.J.).  
Report on a mamtrial trial with ground copper slag to combat the dreaded licking disease resulting from disturbed copper metabolism on the river clay at Bergharen (Land Van Maas en Waal).  
Nutr. Abs. & Revs. 17, 551 (1947).  
cf : Tijdschr. Diergeneesk. 71, 702-20 (1946),  
" " " 72, 243-44 (1947).
- GRUEN (H.H.).  
Significance of trace elements in relation to diseases of plants and animals.  
Proceed. of the Nutr. Soc. 1, 177-183 (1944).
- 
- JACQUOT (R.), ADRIAN (J.).  
Composition, valeur nutritive, éclosabilité de l'oeuf en fonction du régime de la poule.  
Annales de la Nutrition et de l'Alimentation, Vol. III (n° 3-4), 287-329 (1954).
- LAL (K.N.), SUBBA RAO (M.S.).  
Rôle of copper in copper production.  
Trop. Agric. Trinidad. 30, (4-6), 76-82 (1953).



- LAQUENNE (L.), DEMOISSY (E.).  
Sur la richesse en cuivre des terres cultivées.  
Compte rendu Acad. Sci. (Paris). 169, (21), 937-42 (24 novembre 1949).
- MARSTON (H.R.), LEE (H.J.), Mc DONALD (I.W.).  
Cobalt and copper in the nutrition of sheep (1).  
J. Agr. Sci. 38, 216 (1948).  
Cobalt and copper in the nutrition of sheep (2).  
J. Agr. Sci. 38, 222 (1948).
- MARTIN (C.J.).  
Diseases of stock in Australia caused by deficiency of cobalt and of both cobalt and copper.  
Proceed. of the Nutrition Soc. 1, 195-99 (1944).
- MILLS (C.F.).  
Copper complexes in grassland herbage.  
Biochem. J. 57, 603-9 (Februar 1954).
- MITCHEL (R.L.).  
The Distribution of trace elements in soils and grasses.  
Proceed. of the Nutrition Soc. 1, 183-89 (1944).
- MURTY (Y.N.).  
The minimum copper requirement of sheep.  
J. Sci. Industr. Res (India). 16 C. (5), 121-2 (1957).
- PACK (M.R.), TOTH (S.J.), BEAR (F.E.).  
Copper Status of New Jersey soils.  
Soil. Sci. 75, 433-41 (1953).  
(Soils & Fert. XVI. n° 5, p. 347).
- PELLERIN (P.).  
C.R. Acad. Sci. (Paris)  
Technique d'autoradiographie à très basse température.  
244, 1555-8 (11 Mars 1957).
- RUSCHE (L.L.), ROGERS (L.H.), GADDUM (L.W.).  
Quantitative determination of copper and estimation of other trace elements by spectrographic methods in wire grasses from "Salt Sick" and healthy areas.  
J. Agr. Research. 55, 731-8 (1937).
- SMITH (P.F.), SPECHT (A.W.).  
Heavy-metal nutrition and iron chlorosis of citrus seedlings.  
Plant Physiol. (U.S.A.), 28 (3), 371-82 (1953).
- TEAGUE (H.S.), CARPENTER (L.E.).  
The demonstration of a copper deficiency in young growing pigs.  
J. Nutrition, 43, 389-99 (1951).
- WIDDOWSON (E.M.).  
Chemical composition of newly born mammals.  
Nature, 166, 626-28 (Octobre 1950).



## II. Références Médicales.

- ALBERT (A.), GIBSON (M.I.), RUBBO (S.D.).  
The influence of chemical constitution on antibacterial activity  
VI - The bactericidal action of 8 hydroxy-quinoline (oxine).  
Br. J. exp. Pathol. 34 (2), p. 119-130 (April 1953).
- ANDERSON (R.L.), TOVE (S.B.).  
Effect of copper deficiency on synthesis of haem.  
Nature (London), 182 (4.631), p. 315. (2 August 1953).
- AXERUP (S.).  
The blood copper in anemias of children.  
A.B.H.P. (Lundstedts univ.).  
Bockhandel - Hakan - Ohlsons - Bottryckin. 146 p. (1946).  
+ ibid. supplément. Acta Paediatr. 35, 198-202 (1948).
- BALAKHOVSKII (S.D.), DROZ DOVA (N.N.K.).  
Mechanism of action of vit. A, copper-polyene antagonism and keratinization of the epithelial tissue.  
Biokhimiia (Moskva) 21 (6), 330-5 (Nov.-Déc. 1956).
- BAXTER (J.H.), VAN WYCK (J.J.).  
A bone disorder associated with copper deficiency - I. Gross morphological, roentgenological, and chemical observations.  
Bull. Johns Hopkins Hosp. 93,1 (1953).
- BAXTER (J.H.), Van WYCK (J.J.), AKEROYD (J.H.), MOLTIVSKY (A.G.).  
The anemia of copper deficiency in dogs, compared with that produced by iron deficiency.  
Bull. John Hopkins Hosp. 93,41 (1953).
- BAXTER (J.H.), Van WYCK (J.J.), FOLLIS (R.H.) Jr.  
A bone disorder associated with copper deficiency. II. Histological and chemical studies on the bones.  
Bull. John Hopkins Hosp. 93,25 (1953).
- BEARN (A.G.) (1).  
Genetic and biochemical aspects of Wilson's disease.  
Am. J. Med. 15, 442 (1953).
- BEARN (A.G.) (2).  
La maladie de Wilson : une erreur de métabolisme congénitale, avec anomalies multiples.  
Am. J. Med. 22(5), 747-57 (Mai 1957).
- BEARN (A.G.), KUNKEL (H.G.) (1).  
Abnormalities of copper metabolism in Wilson's disease and their relations to the aminoaciduria.  
J. Clin. Invest. 33, 400-9 (Mar. 1954).
- BEARN (A.C.), KUNKEL (H.G.) (2).  
Localization of Cu 64 in serum fractions following oral administration. An alteration in Wilson's disease.  
Proceed. Soc. exper. biol. med.(N.Y.). 85, (1), 44-8 (1954).



- BEARN (A.G.), KUUKEL (H.G.) (3).  
Metabolic studies in Wilson's disease using Cu 64.  
J. Labor. & clin. med. 45, 263 (April 1955).  
+ ibid (correction) , 45, 832 (Mai 1955).
- BEARN (A.G.), KUUKEL (H.G.) (4).  
Wilson's disease  
Erg. Int. Med. N F. Bd 7, S. 147.  
Springer-Verlag Berlin), (1956).
- BEARN (A.G.), YU (T.F.), RITTENBAND (A.G.), GUTMAL (A.G.).  
Fecal clearance studies in Wilson's disease.  
Federal. Proc. 1 (1956).
- BERTOLINI (A.M.), MASARI (N.), GUERRELLONE (C.).  
L'escrizione bilare di Cu et Fe prima e dopo carico endovenoso dei  
metalli nelle op atopatie croniche.  
Il Pol. clinico, (3), 283 - 97. (24 Février 1958).
- BEZSSONOFF (N.), MEROUX (H.).  
Copper content of lenses of man and of cattle.  
Compt. Rend. Soc. de biol. 140, 605-7 (1946).
- BICKEL (H.).  
Zur Biochemie der Wilson'schen Krankheit.  
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. Wiesbaden). S. 402 (1955).
- BICKEL (H.), NEAL (F.C.), HALL (G.A.).  
Clinical and biochemical study of Wilson's disease.  
Quarterly J. of Med. (Oxford). 26, (104), 527-58. (Octobre 1957).
- BICKEL (H.), SCUIZE (H.E.), GRUTER (W.), GOLLNER (I.).  
Versuche zur Coeloplastasminsubstitution bei der hepatocerebralen  
tion.  
Klin. Wschr. 34, 961 (1956).
- BIELCHOWSKY (M.), HALLERVORDEN (J.).  
Symmetrische Einschlusskörper im Stirnhirn beim Wilson-Pseudoskler  
Komplex  
J. Psych. und Neurol. 42, 177 (1931).
- BINET (.), STRUMBA (M.V.).  
Recherche sur l'anémie provoquée. Essais de thérapeutique expérimentale  
J. Physiol. Path. Gen. 35, 30-44 (Mars 1937).
- BLANK (.), GASTNER (H.), TSCHUBITSCHER (H.), WEINBAUM (H.).  
Die Anisocyturie im Rahmen der Stoffwechselstörungen bei hepatocerebralen  
Erkrankungen (Wien).  
Klin. Wschr. 66, 915 (1954).
- BOHUCO (C.).  
Microdosage du Cu sérique.  
A.B.C., p. 73 (1953).
- BOUDIN (.), PEPL (B.).  
La dégénérescence hépato-lenticulaire, nouvelle affection métabolique  
Presse Med. 62, 23-5 (Février 1954).



- BOUVET (P.).  
Etudes sur l'adrénaline. Action de quelques dérivés organiques sur la vitesse d'oxydation de l'adrénaline en présence de l'ion cuivrique.  
Bull. Soc. Chim. biol. (France). 33 (5-6), 601-607 (1951).
- BOUTOROFF (N.).  
Etude des variations physiopathologiques de la cuprémie et de leurs applications en clinique humaine.  
Thèse de Paris (1957).
- BOVI (A.), MASCELLANI (A.).  
Determinazione del tasso di rame serico negli schizofrenici.  
Giornale di psichiatria di Neuropatol. (Ferrara). 86, (1), (1958).
- BOWNESS (J.M.), MORTON (R.A.), SHAKIR (M.H.), STUBBS (A.L.). (1).  
Distribution of copper and zinc in mammalian eyes. Occurrence of metals in melanin fractions from eye tissues.  
Biochem J. (London), 51 (4), 521-30 (July 1952).
- BOWNESS (J.L.), MORTON (R.A.), SHAKIR (M.H.), STUBBS (A.L.) (2).  
Distribution of copper and zinc in the eyes of fresh-water fishes and frogs. Occurrence of metals in melanin fractions from eye tissues.  
Biochem. J. (London), 51, (4), 535-8 (July 1952).
- BOYDEN (R.), POTTER (V.R.).  
On form of copper in blood plasma.  
J. Biol. Chem. 122, 285-90 (January 1938).
- BOYDEN (R.), POTTER (V.R.), ELVEHJEM (C.A.).  
Effect of feeding high levels of copper to albino rats.  
J. Nutrition. 15, 397-402 (April 1938).
- BRAND (I.), TAKATS (I.).  
Histochemische Untersuchung des Kayser-Felischerschen Hornhautringes von Graefes.  
Arch. Optal. Ver. Arch. Augenheilk. 151, 391-98 (1951).
- BRENDSTRUP (P.). (1).  
Serum iron, total iron-binding capacity of serum, and serum copper in normals.  
Scand. J. Clin. and Labor. Invest. 5, 312 (1953).
- BRENDSTRUP (P.). (2).  
Serum copper, serum iron and total iron-binding capacity of serum during treatment with coli-vaccine.  
Acta med. Scand. 144, 114 (1953).
- BRENDSTRUP (P.). (3).  
Serum iron, total iron-binding capacity of serum and serum copper in acute hepatitis.  
Acta. Med. Scand. 146, 167 (1953).
- BRENDSTRUP (P.). (4).  
Serum copper, serum iron and total iron-binding capacity of serum in patients with chronic rheumatoid arthritis.  
Acta. Med. Scand. 146, 384 (1953).



- BRENNER (W.).  
Die Bedeutung des Kupfers in Biologie und Pathologie unter besonderer Berücksichtigung des wachsenden Organismus.  
Erg. inn. Med. N.F. Bd. 4, S.806. Springer Verlag (Berlin), (1953).
- BRENNER (W.), BREIER (A.).  
Beiträge zur Kenntnis des Eisen-und Kupferstoffwechsels im Kindesalter.  
Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis des kindlichen Schizophrmie.  
Ztschr. Kinderheilk. 66, 620-66 (1949).
- BRINTON (D.).  
Wilson's disease.  
Proc. Roy. Soc. Med. 40, 556 (1947).
- BRISKAS (S.B.).  
Biochimie du Cu.  
Exp. Ann. de Bioch. Méd. (1942).
- BRISKAS (S.B.), POLONOVSKI (M.), LESNE (E.).  
Cuivre et croissance pondérale chez le cobaye en avitaminose.  
C.R. Soc. Biol. 138, 111-112 (1944).
- BUCHWALD (H.W.), HUDSON (L.).  
Distribution of iron and copper in malignant neoplastic disease.  
Cancer Research. 4, 645-53 (October 1944).
- BUSCH (J.A.).  
Rôle of trace elements (chiefly copper and cobalt), in hemopoiesis and in therapy of anemia.  
Paediatrics, 17, 586-95 (April 1956).
- BUSCH (J.A.), MAHONEY (J.P.), MARKOWITZ (H.), GUBLER (C.J.), CARTWRIGHT (G.E.), WINTROBE (M.M.).  
Studies on copper metabolism.  
XVI - Radioactive copper studies in normal subjects and in patients with hepatolenticular degeneration.  
J. Clin. Invest. 34, 1.766-78 (December 1955).
- BUSCH (J.A.), MAHONEY (J.P.), GUBLER (C.J.), CARTWRIGHT (G.E.), WINTROBE (M.M.).  
Studies on copper metabolism. The transfert of radio-copper between erythrocytes and plasma.  
J. Lab. Clin. Med. (U.S.A.). 47, (6), 898-906 (1956).
- BUSCH (J.A.), and others.  
Kinetics of iron metabolism and erythrocyte life-span in copper deficient swine.  
J. Exper. Med. 103, 701-12 (May 1956).
- PUTZENREIGER (H.K.), LANGE (J.). (1);  
Über die Bedeutung der Serumeisen und Kupferbestimmung im der Differentialdiagnose des Ikterus.  
Verh. Rhein. Westf. Ges. Inn. Med. (Düsseldorf). (1951).
- PUTZENREIGER (H.K.), LANGE (J.). (2).  
Über die Bedeutung der Eisen-Kupferbestimmung im Blutserum für die Differentialdiagnose des Ikterus.  
Arzt. Wschr. 7,250 (1952).



- BUTZENGEIGER (H.K.), LANGE (J.). (3).  
Über das Verhalten des Eisen- und Kupferspiegels im Blut bei Erkrankungen der Leber und der Gallenwege.  
Dtsch. Arch. Klin. Med. 199, 633 (1952).
- BYKHOVSKAIA (M.S.), POLETAEV (M.I.).  
Polarographic methods in sanitary and hygienic investigations.  
Gig. Sanit. (Moskva). 12, 50-1 (Décembre 1952).
- CALMETTE (A.).  
Infection bacillaire et tuberculose.  
Masson, Edr. (4ème éd. revue). p. 825 (1936).
- CAIOZZO (A.), SAVAGNOE (E.).  
Comportamento della curva cupremica sotto carico endovenoso di gluconato di rame nella malattia reumatica.  
Boll. soc. Ital. Biol. sper. (Palermo). 29, 672-5 (1953).
- CARTWRIGHT (G.E.) (1).  
Copper metabolism in human subjects. A symposium on copper metabolism.  
Ed. by W.D. Mc Elroy and B. Glass. The John Hopkins Press (Baltimore). (1950).
- CARTWRIGHT (G.E.) (2).  
Relationship of copper, cobalt, and other trace elements to hemopoiesis.  
Am. J. Clin. Nutr. 3, 11-19. (Jan. Feb. 1955).
- CARTWRIGHT (G.E.), GUBLER (J.), BUSCH (J.A.), WINTROBE (M.M.).  
Further observations of anemia of copper deficiency in swine.  
Blood. 11, 143-53 (Feb. 1956).
- CARTWRIGHT (G.E.), GUBLER (C.J.), HODGES (R.E.), MAHONEY (J.P.), DAUM (K.), WINTROBE (M.M.), BEAN (W.B.).  
Studies on copper metabolism. XIII. Hepatolenticular degeneration.  
J. Clin. Invest. 33, 1.487 (1954).
- CARTWRIGHT (G.E.), GUBLER (C.J.), WINTROBE (M.M.).  
Studies on copper metabolism. XI. Copper and iron metabolism in the nephrotic syndrom.  
J. Clin. Invest. 33, 685-98 (1954).
- CHASE (M.S.), GUBLER (C.J.), CARTWRIGHT (G.E.), WINTROBE (M.M.).  
Studies on copper metabolism. V. Storage of iron in liver of copper-deficient rats.  
Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.).  
80 (4), 749-51 (Aug. Sept. 1952).
- CH'EN PE.  
Abnormalities of copper metabolism in Wilson's disease. A preliminary report.  
Chinese Medical Journal (Peking). 75, (11), 917-24 (November 1957).
- CHHUTTANI (P.H.), CHOPRA (H.L.), SINGH (S.).  
Hutington's chorea, a biochemical study.  
Journal of the Indian Medical Association. (Calcutta). 32 (10). (16 May 1959).
- CHICHUA IU (V.).  
Copper and iron content of the blood in healthy persons and in certain blood diseases.  
Problemy Gematologii i Perelivaniia Krovi (Moskva). 3, (5), 31-5 (Sept. Oct. 1958).



- CHOU (T.), ADOLPH (W.H.).  
Copper metabolism in man.  
Biochem. J. 29, 476 (1935).
- COMAR (C.L.).  
In "copper metabolism".  
(N.D. Mc Elroy and B. Glass eds.).  
John Hopkins (Baltimore), (1950).
- COMBES (L.).  
Vie de la cellule végétale.  
Tome II (enclaves de la matière vivante). p; 58 et p. 71 (1948).
- COOPER (A.M.), ECKHARDT (R.D.), FALCOON (W.W.), DAVIDSON (C.S.).  
Investigation of the aminoaciduria in Wilson's disease : demonstration of a defect in renal function.  
J. Clin. Invest. 29, 265 (1950).
- COX (W.H.) Jr, MUELLER (A.J.).  
Composition of milk from stock rats and apparatus for milking small laboratory animals.  
J. Nutrition, 13, 249-61 (March 1937).
- CREPAX (P.).  
Azione di metalli e metalloidi sull'effetto gozzigeno del metiltionracile.  
Arch. Sci. Biol. (Bologne). 35, 41-52 (Feb. 1951).
- CUMINGS (J.N.) (1).  
The copper and iron content of brain and liver in the normal and in hepatolenticular degeneration.  
Brain 71, 410 (1948).
- CUMINGS (J.N.) (2).  
The effects of BAL in hepatolenticular degeneration  
Brain 74, 10 (1951).
- CUMINGS (J.N.), GOODWIN (H.J.), EARL (C.J.).  
Blood copper and its relationship to the globulins.  
J. Clin. Path. 8, 69 (1955).
- CUNNINGHAM (I.J.).  
Some biochemical and physiological aspects of copper in animal nutrition.  
Biochem. J. 25, 1267-94 (1931).
- DAUM (S.).  
Métabolisme du cuivre.  
Biol. Listy (Prague), 32, 29-57 (1951).
- DARBY (W.J.).  
Iron and copper.  
J. Am. Med. Ass. 142, 1 288 (1950).
- DENNY-BROWN (D.).  
Abnormal copper metabolism and hepatolenticular degeneration.  
Res. Publ. Ass. Nerv. Ment. Dis. (N.Y.). 32, 190 (1953).
- DENNY-BROWN (D.), PORTER (H.).  
The effect of BAL on hepatolenticular degeneration.  
New England J. Med. 245, 917 (1951).



- DENT (C.E.).  
Aminoaciduria in Fanconi syndrom. Study making extensive use of techniques based upon paper partition chromatography. Bioch. J. 41, 240-53 (1947).
- DONNER (L.), DAUM (S.), MALY (V.).  
Deposition of copper in experimental anemias of rat.  
Sbornik Lekarsky (Praha), 55, (1-2), 22-3 (Feb. 1953).
- DRUMMOND (J.C.)  
Observations on the absorption of copper during the digestion of vegetables artificially coloured with copper sulfate.  
J. State M. (London). 32, 382-6 (1924).
- DUTCHER (T.F.), ROTHMAN (S.).  
Iron, copper and ash content of human hair of different colors.  
J. Invest. Dermat. 17, 65-8 (August 1951).
- EARL (C.J.), MOULTON (M.J.), SELVERSTON (B.).  
Metabolism of copper in Wilson's disease and in normal subjects. Studies with Cu 64.  
Am. J. Med. 17, 205-13 (1954).
- ECHAVE (D.) (1).  
Copper in normal urine, variations in various pathological states.  
Impr. Med. (Rio), 28 (462), p. 43-5 (June 1952).
- ECHAVE (D.) (2).  
El metal cobre en biologica (Buenos Aires).  
El Ateneo, 147 pages (1941).
- ECKEY (B.).  
Metodischer Beitrag zur Gleichzeitigen Bestimmung der Eisen und Kupfer-Konzentration im menschlichen Serum mit dem Pulfrich-Potometer.  
Zeitsch. Inn. Med. 21, 992-94 (1er Novembre 1957).
- EDELSTEIN (E.L.), KRASSILOWSKY (D.), GDALIA (J.).  
A study on serum copper level in 20 acute schizophrenics  
Journal of Mental Science (London), 511-3 (1959).
- EDEN (A.), GREEN (H.H.).  
Micro-determination of copper in biological material.  
Bioch. J. 34, 1202-8 (Sept. 1940).
- ELVEHJEM (C.A.).  
Biological significance of copper and its relation to iron metabolism.  
Physiol. rev. 15 (3), 471-507 (July 1935).
- ELVEHJEM (C.A.), HART (E.B.) (1).  
The copper content of feeding stuffs.  
J. Biol. Chem. 82, 473-7 (1929).
- ELVEHJEM (C.A.), HART (E.B.) (2).  
Necessity of copper as supplement to iron for hemoglobin formation in pig.  
J. Biol. Chem. 95, 363-70 (Feb. 1932).
- ELVEHJEM (C.A.), SHERMAN (W.C.).  
Action of copper in iron metabolism.  
Jour. biol. chem. 98 (1), 309-16 (Octobre 1932).



- ELVEHJEM (C.A.), STTENBOCK (H.), HART (E.B.).  
The effect of diet on the copper content of milk.  
J. Biol. Chem. 83, 27-34 (1929).
- ERDMANN-MULLER (G.J.), HORBORSTEL (H.).  
Über BAL-Behandlung und Kupferausscheidung beim hepatolentikulären Syndrom.  
KlinWschr. 31, 1102 (1953).
- ERLENMEYER (H.), BAUMLER (J.), ROTH (W.).  
Metallkomplexe und Tuberkulostatische Aktivität.  
Helvetica Chimica Acta 36,(5), n° 121, 941-49 (1953).
- Von ERLENMEYER (H.), FALLER (S.), PRIJS (B.), ROTH (W.).  
Metallionen und Resistenzbildung bei tbc. Kulturen.I.  
Helv. Chim. Acta. 37, (2), n° 76, 636-41 (1954).
- ESKOLA (O.), KOSKIMO (P.), HALONEN (P.I.).  
Increased Urinary coproporphyrins following acute myocardial infarction and pulmonary embolism.  
Amer. Heart J. (Saint-Louis). 49, (2), 258-61 (Feb. 1955).
- EVERS (A.).  
Serum copper levels in primary chronic polyarthritis.  
Zschr. Rheumaforsch. (Wien). 11, (5), 164-76 (June 1952).
- Van EYK (B.J.).  
Quantitative spectrographic determination of minimal quantity of copper in biological material.  
Ned. Tschr. geneesk. 78, 3.627.29 (1934).
- FIESS (H.A.), KLOTZ (I.M.).  
The thermodynamics of metallo-protein combinations. Comparison of copper complexes with natural proteins.  
Northwestern Univ. Journ. Amer. Che. Soc. 74, 887-91 (1952).
- FIESSINGER (N.A.).  
Diagnostics biologiques et fonctionnels.  
6ème édi. Maloine, ed. p. 509 et 604 et suivantes (1949).
- FINBY (N.), BEARN (A.G.).  
Roentgenographic abnormalities of the skeletal system in Wilson's disease.  
Amer. J. of Roentgenology, radiumtherapy and nuclear medecine (Springfield). II. 79, (4), 603-11 (April 1958).
- FOLLIS (R.H.), BUSCH (J.A.) Jr, CARTWRIGHT (G.E.), WINTROBE (M.M.).  
Skeletal changes associated with copper deficiency in swine.  
Bull. John Hopkins Hosp. 97, 405-13 (Décembre 1955).
- FORESTIER (J.).  
Principes du traitement des rhumatismes inflammatoires.  
Progr. Med. (Paris). 80, 243-49 (24 Mai 1952).
- FORESTIER (J.), CERTONCINY.  
Lig. Française contre Rhum.  
C.R. de la journée nancéenne (23 Mai 1952).
- FRANKLIN (E.C.), BAUMANN (A.).  
Liver dysfunction in hepatolenticular degeneration.  
Am. J. Med. 15, 450 (1953).



- FRANKLIN (E.C.), BLUTMANN (A.).  
Liver dysfunction in hepatolenticular degeneration.  
Am. J. Med. 15, 450 (1953).
- FRICK (E.), LAMPL (F.).  
Über die Entwicklung des Gehirns von Ratten bei Kupfermangel.  
Klin. Wochschr. 31, 912-13 (1er Oct. 1953).
- GALLAGHER (C.H.), JUDAH (J.D.), REES (K.R.) (1).  
Biochemistry of copper deficiency : blood chemistry and excretion of amino-acids.  
Proc. Roy. Soc. (London). Ser. B. 145, 134-150 (Mar. 1956).
- GALLAGHER (C.H.), JUDAH (J.D.), REES (K.R.) (2).  
Biochemistry of copper deficiency : synthetic process.  
Proc. Roy. Soc. (London).  
Ser. B. 145, 195-205. (29 May 1956).
- GENEVOIS (L.).  
Traité de chimie biologique.  
Tome II, 437-450.
- GEORGHIU (T.) (1).  
Normal and pathological metabolism of iron, copper and cobalt.  
Medicina Interna (Bucuresti). 335-49 (1958).
- GEORGHIU (T.) (2).  
Clinical and biological aspects of iron and copper metabolism disorders.  
Medicina interna (Bucuresti). 10 (4), 507-20 (Apr. 1958).
- GERLACH (W.).  
Untersuchungen über den Kupfergehalt menschlicher (und tierischer) Organe.  
Virchows Arch. path. Anat. 294, 171. (1935).
- GERLACH (W.), ROHRSHNEIDER (W.).  
Besteht das Pigment des Kayser-Fleischerschen Hornhautringes aus Silber ?  
Klin. Wchnschr. 13, 48-9 (13 Janvier 1934).
- GILSANZ (V.), SEGOVIA (J.M.), MENDOZA (H.C.).  
Contribution to study of Wilson's disease.  
A.M.A. Arch. int. med. 95, 727 (1955).
- GINSBURG (B.).  
Genetics, 29, 176 (1944).
- GISINGER (E.) (1).  
Beiträge zum Kupferstoffwechsel.  
Wien. Zschr. inn. Med. 36, 198 (1955).
- GISINGER (E.) (2).  
Serumeisen, Transferrin und Serumkupfer bei malignen Erkrankungen.  
Krebsarzt (Wien). 13, (2), 105-9. (Feb. 1958).
- GISINGER (E.) (3).  
Die diagnostische und prognostische Bedeutung von Kupfer und Eisenuntersuchungen.  
Wiener Klinische Wochenschrift 70, (27), 507-8 (4 July 1958).



- GLAZEBROOK (A.J.).  
Wilson's disease.  
Edinburgh. Med.J. 52, 83 (1945).
- GLEES (M.), PRIBILLA (W.), VOLLAND (W.).  
Copper storage experiments with special consideration of eye.  
Klin. Wchnschr. 34, 90-92 (15 Jan. 1956).
- GOITER (F.J.).  
Depigmentation, new dietary deficiency disease cured by copper.  
Nature, 136, 185 (2 August 1935).
- GRASSET (R.), FREREJEAN (L.), DURR (R.), MAUVERNAY (R.Y.).  
Introduction de la spectrographie pour le dosage simultané des cations dans le sang total et le sérum.  
Biol. Med. Vol. XLI, n° 6 (Nov-Déc. 1952).
- GUBLER (C.J.).  
Metabolisme du cuivre chez l'homme : l'hypocuprémie dans diverses affections. (report to council on foods and nutrition).  
Journ. of Amer. Med. Assoc. 161, (6), 530-5. (9 Juin 1956).
- GUBLER (C.J.), CARTWRIGHT (G.E.).  
Studies on copper metabolism : Enzyme activities and iron metabolism in copper and iron deficiencies.  
J. Biol. Chem. (U.S.A.).  
224, (1°), 533-46 (1957).
- GUBLER (C.J.), LAHEY (M.E.), ASHENBRUCKER (H.), CARTWRIGHT (G.E.), WINTROBE (M.M.).  
Studies on copper metabolism. I. A method for the determination of copper in whole blood, red blood cells, and plasma.  
J. of Biol. Chem. (Baltimore). 196 (1), p. 209-20 (May 1952).
- GUBLER (C.J.), LAHEY (M.E.), CARTWRIGHT (G.E.), WINTROBE (M.M.).  
Studies on copper metabolism. IX. The transportation of copper in blood.  
J. Clin. Invest. 32, 405 (1953).
- GUBLER (C.J.), LAHEY (M.E.), CHASE (J.S.), CARTWRIGHT (G.E.), WINTROBE (M.M.).  
Copper metabolism, metabolism of iron in copper deficient swine.  
Blood 7, 1 075-92 (Nov. 1952).
- GUBLER (C.J.), TAYLOR, EICHWALD, CARTWRIGHT (G.E.), WINTROBE (M.M.).  
Influence of manganese on copper metabolism.  
Proc. Soc. Explor. biol. med. 86, 223-7 (June 1954).
- HALL (H.C.).  
La dégénérescence hépatolenticulaire.  
Masson et C° (Paris) (1921).
- HAMILTON (L.D.), GUBLER (C.J.), ASHENBRUCKER (H.), CARTWRIGHT (G.E.), WINTROBE (M.M.).  
Studies on relationship of adrenal cortex to experimental production of hypoferremia in rats.  
Endocrinology, 48, 44-55 (Jan. 1951).



- Mc HARGUE (J.S.).  
The association of copper with substances containing the fat-soluble A vitamin.  
Amer. J. Physiol. 72, (3), 583-94 (Baltimore). (Déc. 1925).
- Mc HARGUE (J.S.), HEALY (D.J.), HILL (E.S.).  
Relation of copper to hemoglobin content of rat blood. Preliminary report.  
Journ. Biol. Chem. 78, (3), 637-41. (Aug. 1928).
- HART (E.B.), STEENBOCK (H.), WADDELL (J.), ELVEHJEM (C.A.).  
Iron in nutrition-copper as supplement to iron for hemoglobin building in rat.  
J. Biol. Chem. 77, 797-812 (May 1928).
- HAUROWITZ (F.).  
Über eine Anomalie des Kupferstoffwechsels.  
Zschr. Physio. Chem. 190, 72 (1930).
- HEIMMEYER (L.).  
Vorträge aus dem Gebiet der klinischen Chemie und Cardologie.  
I Vol. Georg Thieme, édit. (Stuttgart). 32-35 (1956).
- HEILMEYER (L.), KEIDERLING (W.), STUWE (G.)  
Kupfer und Eisen als körpereigene Wirkstoffe und ihre Bedeutung beim Krankheitsgeschehen.  
Gustav Fischer Verlag (JENA) (1941).
- HEMMELER (G.).  
Métabolisme du fer.  
MASSON & C° (Paris) (1951).
- HERRMANN (R.).  
Flame spectro-metric determination of copper in blood.  
schr. Ges. Exp. Med. 126, (4), p. 334-37 (1955).
- HESS (A.F.), SUP LEE (G.O.), BELLIS (B.).  
Copper as constituent of woman's and cow's milk. Its absorption and excretion by the infant.  
J. Biol. Chem. 57, (3), 725-29 (1923).
- HESS (A.F.), WEINSTOCK (J.).  
The catalytic action of minute amounts of copper in the destruction of anti-scorbutic vitamin in milk.  
Jour. Amer. Med. Assoc. (Chicago). 82, (12), 952-56 (1924).
- HODGES, KIRKENDALL, GUBLER (C.J.).  
Quelques aspects de la fonction rénale dans la dégénérescence hépatolenticulaire.  
J. Labor. et Clin. Med. (Mars 1956).
- HOLMBERG (C.G.), LAURELL (C.B.).  
Investigations in serum copper :  
I. Nature of serum copper and its relation to the ironbinding protein in human serum. Acta chem. Scand. 1, 944 (1947).  
II. Isolation of the copper containing protein and a description of some of its properties. Acta Chem. Scand. 2, 250 (1948).  
III. Coeruloplasmin as an enzyme. Acta chem. Scand. 5, 476 (1951).  
IV. Effect of different anions on the enzymatic activity of coeruloplasmin.  
Acta chem. Scand. 5, 921 (1951).



- HOLMBERG (C.G.), LAURELL (C.B.).  
Studies on the capacity of serum to bind iron.  
Acta Physiol. Scand. 10, 307 (1948).
- HOLMBERG (C.G.), LAURELL (C.B.).  
Oxydase reactions in human plasma caused by caeruloplasmin.  
Scand. J. Clin. and Labor. Invest. 3, (2), 103 (1951).
- HORNBORSTEL (H.).  
Der Kupferstoffwechsel beim hepatolentikulären Syndrom.  
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. (Wiesbaden). S. 363 (1953).
- HORNBORSTEL (H.).  
Neuere Erkenntnisse über das hepatolentikuläre Syndrom.  
Schweiz. Med. Wschr. 84,7 (1954).
- HUNDLEY (J.M.).  
Achromorichia due to copper deficiency.  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 74, 531-36 (July 1950).
- HUTCHINSON (J.H.).  
Rôle of copper in iron-deficiency anemia in infancy.  
Quart. J. Med. (N.S.). 7, 397-419 (July 1938).
- HUTTERER (F.), HUNYA (T.).  
Diagnostic différentiel entre les ictères par hépatite et les ictères par rétention au moyen du dosage du cuivre et du fer sériques.  
Schweiz. Mediz. Wochschr. 8, 190 (Fév. 1957).
- IBER (F.L.), CHALMERS (T.C.), UZMAN (L.L.).  
Studies of protein metabolism in hepatolenticular degeneration.  
Metabolism (Baltimore). 6, (4), 388-96 (July 1957).
- INDOVINA (I.), CAJOZZO (A.).  
Variazioni della cupremia dopo iniezioni endovena di gluconato di rame in epatopazienti.  
Rass. internaz. clin. (Univ. Palermo). vol. 30, 265-68 (Mai 1950).
- JAMES (W.).  
A propos de quatre cas de maladie de Wilson dans une même famille.  
Thèse. (Paris), 32 pages (27 Avril 1959).
- JANLE (M.F.), BOUSSLIER (G.), BADIN (J.).  
Electrophorèse de l'haptoglobine et de son complexe hémoglobinique.  
Bull. Soc. Chim. Biol. 34, 1063-69 (1952).
- JEFFREY, WATSON.  
Free erythrocyte porphyrin and plasma copper in rheumatoid disease.  
Acta haematol. 12, 169-76 (Sept. 1954).
- JENSEN (W.N.), KAMIN (H.).  
Transport et excretion du cuivre chez des sujets normaux et chez des malades atteints de cirrhose de Laënnec et de maladie de Wilson. Etude avec Cu<sup>64</sup>.  
J. of Lab. and Clin. Med. 49, (2), 200-10 (Fév. 1957).



- JENSEN (R.), MAAG (D.D.), FLINT (J.I.).  
Enzootic ataxia from copper deficiency in sheep in Colorado.  
Jour. of the Amer. Veterin. Assoc. (Chicago). 133, (6), 336-40.  
(15 sept. 1958).
- JEROME (H.).  
Le cuivre en biochimie médicale.  
Thèse (Paris), 73 p. (1955).
- JERO E (H.), SCHMITT (H.).  
Microméthodes septrophotométriques de dosage du Cu total dans les tissus et les liquides biologiques.  
Bull. de la Soc. de Chimie biol. Tome XXXVI, n° 9 (1954) (Masson ed.).
- JOSEPHS (H.W.).  
Studies on iron metabolism, and influence of copper.  
Jour. Biol. chem. 96, (2), 559-71 (May 1932).
- JUNG (F.), GIGGELBERGER (H.).  
Zur Wirkungsweise thyreostätischer Stoffe.  
Naturwissenschaftler, 35, 221 (Août 1948).
- KAPRAN (R.G.).  
Content of copper and baryum in whole blood and some hemopoietic tissues in acute leukemia.  
Klinicheskaja Meditsina (Moskva). 36 (7), 104-6 (July 1958).
- KARP (J.).  
Kupfer und B.Vitamin.  
Ztschr. Ges. Exp. Med. 89, 765-70 (1933).
- KASANEN (A.), VIITANEN (I.).  
Copper content of thyroïd tissue and serum in thyrotoxicosis.  
Acta Med. Scandinav. 153, 467-72 (1956).
- KEHRER (F.).  
Zur Aetiologie und Nosologie der Pseudosklerose Westphal-Wilson.  
Zschr. Neurol. 129, 488 (1930).
- KEIDERLING (W.) (1).  
Über die Kupfer-Protein Verbindung im Blutplasma.  
Klin. Wschr. 28, 460 (1950).
- KEIDERLING (W.) (2).  
Antagonisme Cu-Fe dans le plasma sanguin. Son importance clinique en tant que réaction de défense humorale non spécifique dans les processus tuberculeux.  
Beitr. Klin. Tub. 103 (6), 447-52 (1950).
- KEIDERLING (W.), SCHARPF (H.) (1).  
Über die Klinische Bedeutung der Serumkupfer- und Eisenbestimmung bei Erkrankungen des Leberparenchyms und der Gallenwege.  
Arztl. Fösch. 6, 115 (1952).
- KEIDERLING (W.), SCHARPF (H.) (2).  
The clinical significance of determination of serum copper and iron in neoplastic diseases.  
Münch. Med. Wschr. 95, (15), 437-9 (10 April 1953).



- KEUP (W.).  
Die "Biochemie der Schizophrenie", eine kritische Stellungnahme.  
Monatsschr. Psychiatr. u. Neurol. 128, (1), 56-90 (July-Aug. 1954).
- KOCH (H.J.), SMITH (E.R.).  
Determination of copper and zinc in normal and pathologic thyroid tissue.  
(Sloan-Kettering. Inst. N.Y.).  
J. Clin. Endocrinal and Metabolism. 16, 124-9 (Jan. 1956).
- KRATZER (F.H.).  
Effect of dietary molybdenum upon chicks and poults.  
Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.). 80, (3), p. 483-6 (July 1952).
- KULWICH (R.), HANSARD (S.L.), COMER (C.L.), DAVIS (G.K.).  
Copper, Molybdenum and zinc, interrelationships in rats and swine.  
Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 84, 487-91 (Nov. 1953).
- 
- LAHEY (M.E.), GUBLER (C.J.), BROWN (D.M.), SMITH (E.L.), JAGER (B.V.),  
CARTWRIGHT (G.E.), WINTROBE (M.M.).  
Studies on copper metabolism : VII. The correlation between the serum copper level and various serum protein fractions.  
J. Labor. and clin. med. 41, 829 (1953).
- LAHEY (M.E.), GUBLER (C.J.), CARTWRIGHT (G.E.), WINTROBE (M.M.). (1).  
Studies on copper metabolism. Blood copper in normal human subjects.  
J. Clin. Invest. 32, 322-28 (April 1953).
- LAHEY (M.E.), GUBLER (C.J.), CARTWRIGHT (G.E.), WINTROBE (M.M.). (2).  
Studies on copper metabolism. III - Blood copper in pregnancy and various pathologic states.  
J. Clin. Invest. 32, 329-39 (April 1953).
- LAHEY (M.E.), GUBLER (C.J.), CHASE (M.S.), CARTWRIGHT (G.E.), WINTROBE (M.M.).  
Métabolisme du cuivre : manifestations sanguines de la déficience en cuivre chez le porc.  
Blood, 7, 1053-74 et 7, 1075-92 (November 1952).
- LAMBINS (S.), BAZIN (S.), SALAS (A.).  
Action of copper salts on erythrocytes.  
Ann. Inst. Past. 81, 572-80 (Nov. 1951).
- LAMY, NICK, JAMET, AUSSANAIRE, GRASSET.  
Maladie de Wilson, apparition de signes neurologiques trois ans après l'installation d'une cirrhose hypersplénomégalyque.  
Revue Neuro. 93, (3), (1955).
- LANGE (J.).  
Eisen Kupfer und Eiweiss am Beispiel der Leberkrankheiten.  
I Vol. Georg. Thieme Verlag (Stuttgart) (1957).
- LANGE (J.), ODENTHAL (H.).  
Zur Differentialdiagnose und Verlaufsbeurteilung von Leber und Gallenwegserkrankungen mit Hilfe der Serumeisen-Kupfer- und Eiweisbestimmung.  
Verh. Dtsch. Ges. Verdauungs u. Stoffwechselkrankheiten.  
Georg Thieme Verlag (Stuttgart) s. 78 (1953).



- LASAUSSÉ (E.), FROGRAIN (L.), POLLES (C.).  
Injection de glycocollate cuivrique dans le coeur du cobaye et répartition du cuivre dans les organes et dans les éliminations.  
J. Pharm. Chim. (Paris). 8<sup>ème</sup> ser. 24, 489-98 (1936).
- LATKA (H.).  
Beiträge zur Kenntnis der Kupfersulfatvergiftung (München).  
Inaug. Diss. reprinted from :  
Ztschr. für Gerichtliche Medz. Bd. 39, (5), 544-60 (1949).
- LAUDAHN (G.) (1).  
Hepatitis and Obstructive jaundice. Differential diagnosis with special regard to iron and copper determination in serum.  
Deutsch. Med. Wchnschr. 79, 948-52 (11 June 1954).
- LAUDAHN (G.) (2).  
Zur Frage der Serumeisenvermehrung bei Hepatitis.  
Artzl. Forsch. 9, 412 (1955).
- LAUDAHN (G.).  
Zur Differentialdiagnose : Hepatitis und Verschlussikterns.  
Dtsch. Med. Wschr. 79, 948 (1954).
- LAURELL (C.B.) (1).  
Studies on the transportation and metabolism of iron in the body.  
Acta. physiol. Scand. 14 suppl. Bd. , 46 (1947).
- LAURELL (C.B.) (2).  
Neuere Erkenntnisse auf dem Gebiet des Kupferstoffwechsels.  
5<sup>ème</sup> Congrès de la Société Européenne d'Hématologie, Freiburg, S.111.  
Springer-Verlag (Berlin), (1956).
- LECOQ (R.), CHAUCHARD (P.), MAZOUÉ (H.).  
Facteurs antianémiques et oligo-éléments.  
Thérapie VII, 344-54 (1952).
- LELOUP (J.).  
Action of antithyroid preparations on vertebrates.  
Bull. Soc. Chim. Biol. Tome 29 (7 & 9), 582-95 (Juillet-Sept. 1947).
- LEMAIRE (A.), LOEPER (J.).  
Etude du fer sérique dans certaines affections hépatiques et endocriniennes  
Presse Médicale, 57, 1117 (1949) Paris.
- LERICHE (J.).  
Cancérologie.  
Maloine Ed. (Paris) 968 pages.  
(Corps chimiques et cancer) 763-8 (1948).
- LEVERTON (R.H.).  
The copper metabolism of young women.  
J. Nutrit. 17,17 (1939).
- LEVERTON (R.H.), BINKLEY (E.S.).  
The copper metabolism and requirement of young women.  
J. Nutrit. 27, 43-53 (Jan. 1944).



- LICHTENSTEIN (B.W.), GORE (I.).  
Wilson's disease. Chronic form.  
A.M.A. Arch. Neurol. and Psych. 73,13 (1955).
- Von LINDEN (M.) (1).  
Le cuivre com e thérapeutique.  
Pratis, Bern. 14, H.7, 1, 3 (1925).
- Von LINDEN (M.) (2).  
Die biologischen Wirkungen des Kupfers.  
Med. Welt. 8, 1112-5 (1934).
- Von LINDEN (M.) (3).  
Das Kupfer in seiner biologischen und therapeutischen Bedeutung.  
Schweiz med. Wschr. 65, 660-2 (1935).
- LINDOW (C.W.), ELVEHJEM (C.A.), PETERSON (W.H.).  
The copper content of plant and animal foods.  
J. Biol. Chem. 82, 465-71 (1929).
- LINDOW (C.W.), PETERSON (W.H.), STEENBOCK (H.).  
The copper metabolism of the rat.  
J. Biol. Chem. 84, 419 (1929).
- LOCKE (A.), MAIN (.E.R.), ROSBACH (D.O.).  
Copper and non-hemoglobinous iron contents of blood serum in disease.  
J. Clin. Invest. 11, 527-42 (May 1932).
- LOISEL (P.).  
Notions actuelles sur la cirrhose wilsonienne.  
Revue Internat. d'Hépatologie (Paris). 6, (3), 311-45 (1956).
- LORENZEN (E.J.), SMITH (S.E.).  
Copper and manganese storage in rat, rabbit and guinea pig.  
J. Nutrition 33, 143-54 (Feb. 1947).
- LUETHY (F.).  
Über die hepatolentikuläre Degeneration.  
Dtsch. Zschr. Nervenhk. 123, 101 (1931).
- LUTON (Père et Fils).  
Essai de traitement de la phtysie par les sels de cuivre.  
Revue de la Tuberculose (1894).
- LYGREN (T.).  
Hepatolenticular degeneration and juvenile cirrhosis in the same family  
The lancet. 275-76 (7 Februar 1959).
- LYGREN (T.), WOLFF (E.), SORENSEN (F.), BERHARDSSEN (A.).  
Hepatolenticular degeneration : a case diagnosed biochemically before clinical manifestations.  
The Lancet, 276-77 (7 Février 1959).
- MAAS (A.R.), MICHAUD (L.), SPECTOR (H.), ELVEHJEM (C.A.), HART (E.B.).  
Relationship of copper to hematopoiesis in experimental hemorrhagic anemia.  
Am. J. Physiol. 141, 322-28 (May 1944)



- MACHEBOEUF (M.).  
Teneur en cuivre des protéines du sang et affinité des différentes protéines du plasma pour le cuivre.  
Exposés ann. Bioch. Méd. (Paris), 13, 185-99 (1951).
- MACHEBOEUF (M.) et PAQUIER (F.).  
Etude de l'enlèvement par divers agents chimiques, du cuivre combiné aux protéines.  
Ann. Inst. Past. 79, 121-9 (August 1950).
- MACHEBOEUF (M.), VISCONTINI (M.).  
Affinités des protéides pour le cuivre.  
Ann. Inst. Past., 71, 188-200 (Mai-Juin 1945).
- MAHONEY (J.P.), and C°.  
Excretion of copper by animals.  
J. Lab. and Clin. Med. 46, 702-8 (Nov. 1955).
- MALLORY (F.B.).  
The relationship of chronic poisoning with copper to hemochromatosis.  
Am. J. Path. 1, 117 (1925).
- MALLORY (F.B.), PARKER (F.).  
The microchemical demonstration of copper in pigment cirrhosis.  
Am. J. Path. 7, 365 (1931).
- MANDAI (H.).  
Medical application of the polarographic method ; microanalysis of copper.  
Acta Scholae med. (Univ. Koto) 14, 167-72 (1931).
- MANDELSTEIN (B.M.), STAMLER (M.W.), THOMPSON (R.H.S.), THRUSTON (M.H.).  
Studies on copper metabolism in demyelination diseases of the central nervous system.  
Brain, 71, 212 (1948).
- MAHN (T.), KEILIN (D.).  
Hemocuprein and hepatocuprein, copper proteins of blood and liver in mammals.  
Proc. Roy. Soc (London), 126, 303-15 (9 december 1938).
- MARKOWITZ (H.), GUBLER (C.J.), MAHONEY (J.P.), CARTWRIGHT (G.E.), WINTROBE (M.M.).  
Studies on copper metabolism. XIV - Copper, ceruloplasmin and oxidase activity in sera of normal human subjects, pregnant women and patients with infection, hepatolenticular degeneration and nephrotic syndrome.  
J. Clin. Invest. (N.Y.), 34 (10), 1498 (1955).
- MARSTON (E.R.).  
Cobalt, copper and molybdenum in nutrition of animals and plants.  
Physiol. Rev. 32, 66-121 (1952).
- MASSHOFF (W.).  
Über die Beziehungen zwischen Eisen und Kupfer in der menschlichen Leber.  
Verh. Dtsch. Ges. Path. 35, Tagung. (1951).



- MATTHEWS (W.B.).  
The absorption and excretion of radiocopper in hepatolenticular degeneration.  
J. Neurol., Neurosurg. and Psychiatr. 17, 242 (1954).
- MATTHEWS (W.B.), MILNE (M.D.), BELL (M.).  
The metabolic disorder in hepatolenticular degeneration.  
Quart. J. Med. 21, (84), 425 (October 1952).
- MAUVERNEY (R.) cf GRASSET 2611 p. 108.
- MEUNIER (J.), SAINT-LAURENS (G.).  
Sur des calculs biliaires humains à forte teneur en cuivre.  
C.R. Acad. Sci. (Paris). 183, 1311 (1926).
- MIKHLIN (D.M.), PSHENOVA (K.V.O.).  
Copper and iron compounds in plants.  
Dokla. Akad. Nauk. SSSR (Moskva). 429-31 (21 May 1953).
- MILLS (C.F.).  
Dietary availability of copper in form of naturally occurring organic complexes.  
Biochem. J. 63, 190-93 (June 1956).
- MILLS (E.S.).  
Idiopathic hypochromemia.  
Am. J. Med. Sci. 183, 554-65 (October 1931).
- MOORE (C.V.), DOAN (C.A.), ARROWSMITH (W.R.).  
Studies on iron transportation and metabolism. II - The mechanism of iron absorption : its significance in iron mobilization in anemic states of varied etiology.  
J. Clin. Invest. 16, 627 (1937).
- MOORE (S.), STEIN (W.H.).  
Aminoaciduria in Wilson's disease.  
Proc. II. Internat. Congress of Biochemistry, 367 (Paris, 1952).
- MORELL (A.G.), SCHEINBERG (I.H.).  
Preparation of an apoprotein from coeruleoplasmin by reversible dissociation of copper.  
Science (Washington), 137, - 3298 - 588-90 (14 March 1958).
- MUNCH-PETERSEN (S.), (1)  
Copper content in mother's milk before and after intravenous copper administration.  
Acta Paediatr. 39, 378-88 (1950).
- MUNCH - PETERSEN (S.) (2).  
Copper content in cerebrospinal fluid in adults (and children), with and without sufferings in central nervous system.  
Acta Psych. & Neurol. 25, 251-68 (1950).
- MUNCH-PETERSEN (S.) (3).  
Variations in serum copper in course of 24 hours.  
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 2, 48-52 (1950).
- MUNCH-PETERSEN (S.) (4).  
Amount of copper in human erythrocytes at different serum copper levels.  
Scandinav. J. Clin. & Lab. Invest. 2, 53-57 (1950).



- NASARAKA (S.). (1).  
Accumulation of copper in the Mongolian spot.  
Jap. J. M. Sci. 3, biochem. 175-8 (1935-37).
- NASARAKA (S.). (2).  
Metabolism of copper and adrenalin in normal and thyroidless animals.  
Jap. J. Med. Sci II, 4, 93-5 (November 1938),  
and : Further studies concerning significance of thyroid.  
Japan. J. Med. Sci. II 4, 97-102 (November 1938).
- NEALE (F.C.), FISCHER (M.), WILLIAM (S.).  
Copper metabolism in normal adults and in patients with Wilson's disease.  
J. of Clinical pathology. 11, 441-47 (Sept. 1958).
- Nutrition Reviews (N.Y.) (1).  
Copper deficiency in pigs. 9,(10), 317-8 (October 1951).
- Nutrition Reviews (N.Y.) (2).  
New hypotheses concerning Wilson's disease.  
16, (2), 37-8 (February 1958).
- Nutrition Reviews (N.Y.) (3).  
Copper nutrition in ruminants.  
16, (3), 78-80 (March 1958).
- OKINAKA(S.), YOSHIKAWA (M.), TOYODA (M.), MOZAI (T.), TOYOKURA (Y.),  
KAMEYAMA (M.).  
Pathogenesis of hepatocerebral disease. II. Histochemical study of  
copper of liver and brain in Wilson's disease.  
A.M.A. Arch. Neurol. and Psychiatr. 72, 573-78 (November 1954).
- PAGLIARDI (E.), JIANGRANDI (E.), VINTI (A.).  
A comportamento del rame plasmatico ed eritrocitario in condizioni  
morbide.  
Rassegna di fisiopatologia clinica e terapeutica (Pisa), 29,(8),  
(Août 1957).
- PALACIOS, MATTEOS (J.M.).  
Signification clinique de la détermination conjointe du cuivre et du  
fer dans le sang.  
Revue clin. expan. (Madrid), 59, (2), 78-82 (Oct. 1955).
- PALMER (J.F.), DREW (A.L.), CHENOWETH (M.B.).  
Tissue copper determinations in a case of hepatolenticular degeneration,  
treated with BAL (dimercaprol).  
Univ. Michigan Med. Bull. 19, 308 (1953).
- PALMIERI (A.), GIACCA (S.), VITALI (A.).  
Exogenous hemochromatosis. Study of case with special reference to  
behavior of iron and copper.  
Arch. E. Maragliano pat. e clin. I,11, 947-92 (December 1955).



- PALMIERI (A.), RAVAZZONI (C.).  
Détermination du cuivre sanguin dans la tuberculose pulmonaire comme index d'évolutivité.  
Arch. Maragliano Pat. Clin. II, (2), 543-55 (1955).
- PALMIERI (A.), VITALI (A.), FAZIO (B.).  
Behaviour of thyroid copper in various experimental conditions : effect of thiouracil and of p.hydroxyphenone.  
Arch. E. Maragliano. pat. et clin. I, 11, 537-44 (Oct. 1955).
- PANIZON, CANTARUTTI.  
Acta Poediat. latina (Parma). 7, 574-85 (1954).
- PEDRERO (E.) Jr, KOZELKA (F.L.) (1).  
Effect of various parhological conditions on the copper content of human tissues.  
A.M.A. Arch. Path. 52, (5), 447-54 (November 1951).
- PEDRERO (E.) Jr, KOSELKA (F.L.) (2).  
Effect of copper on hepatic tumors produced by 3-methyl 4 dimethylamino benzene.  
A.M.A. Arch. Path. 52, (5), 455-7 (November 1951).
- PELLER (S.).  
Alkohol-arsen. und Stralenenergie im der Krebsgenese.  
Medizinische (Stuttgart). 43, 1553-64 (26 October 1957).
- PEPIN (B.).  
La dégénérescence hépatolenticulaire, nouvelle affection métabolique.  
Thèse (Paris), 234 pages. (10 Juin 1953).
- PERLA (D.).  
Protective action of copper against infection with mycobacterium tuberculosis (bovine) in albino rats.  
Proc. Soc. Exp. biol. (N.Y.), 34, 365-7 (1936).
- PERLA (D.), SANDBERG (M.), HOLLY (O.M.).  
Interdependance of vitamine B1 and manganese ; manganese and copper metabolism in normal rats.  
Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 42, 371-74 (November 1939).
- PESTEL (M.), BAILLY (M.), BOUTOROFF (N.).  
Etude physiopathologique de la cuprémie chez l'homme. Intérêt clinique de ses variations.  
Pressa Médicale (Paris), 874-5 (17 mai 1958).
- PETERSON.  
Microméthode de dosage du Cu sérique.  
Anal. Chem. (U.S.A.), 27, 1195 (1955).
- PIERIE (R.).  
Serum copper and its relationship to serum iron in patients with neoplastic diseases.  
J. Clin. Path. (London), 5, (2), 190-3 (May 1952).



- POLONOVSKI (M.) (1).  
"Biochimie médicale" (Paris).  
p. 204 (répartition du Cu et du Fe dans le sang de l'homme).  
p. 209 (Cu et Fe dans le sang au cours des anémies et des infections).  
p. 250 (Cu et enzymes). (1947).
- POLONOVSKI (M.) (2).  
Pathologie chimique.  
tome I. p. 110-113 et p. 280 (1952).
- POLONOVSKI (M.), BRISKAS (A.).  
Rôle du fer dans la régénération de l'hémoglobine et des hématies  
au cours de l'anémie provoquée chez le rat.  
C.R. Soc. Biol. 129, 383-3 (1938).
- PONZ (F.).  
Inhibition de l'absorption intestinale du glucose par l'ion cuivre.  
Rev. espan. fisicl. (Univ. Barcelone), 9, 205-11 (1953).
- PORTER (H.) (1).  
Aminoacid excretion in degenerative diseases of nervous system.  
J. Lab. Clin. Med. 34, 1623-6 (December 1949).
- PORTER (H.) (2).  
Copper excretion in the urine of normal individuals and of patients  
with hepatolenticular degeneration.  
Arch. Biochem. and Biophys. 31, 262 (1952).
- PORTER (H.), ADAMS (R.D.).  
Copper content of brain and liver in hepatic encephalopathy.  
J. Neuropath. and Exper. Neurol. 15, 61-4 (January 1956).
- PORTER (H.), AINSWORTH (S.).  
Reaction of brain copper proteins with sodium diethyldithiocarbamate  
in normal and in hepatolenticular degeneration.  
Proc. Soc. exper. biol. med. (N.Y.). 98, (2), 277-80 (June 1958).
- PORTER (H.), FOLCH .  
Fractions protéiniques cérébrales contenant du cuivre, chez le sujet  
sain et dans la maladie de Wilson.  
Arch. of neuropsych. (January 1957).
- RABINOVITCH (I.M.).  
The copper content of urine of normal individuals.  
J. Biol. Chem. 100, 479 (1933).
- RAURAMO (L.), WALLGREN (G.R.).  
Variations of serum copper in cancer of uterus.  
Ann. Med. exp. and biol. Fenniae. 30, 259-66 (1952).
- Van RAVESTEYN (A.H.).  
Metabolism of copper in man.  
Acta. Med. Scand. 118, 163 (1944).
- RAY (R.), DAVISSON (E.O.), CRESPI (H.L.).  
Experiments on the degradation of lipoproteins from serum.  
J. Phys. chemistry, 58, (10), 841-6 (October 1954).



- RECHENBERGER (J.) (1).  
Cuivre et fer sériques dans les hépatites épidémiques et les ictères par rétention.  
Deutsche Z. Verdauungs und Stoffwechselkrankheiten. 15, 70-8 (1955).
- RECHENBERGER (J.) (2).  
The clinical significance of copper metabolism. General importance. Resorption and excretion of copper, and the copper content in tissues.  
Zeitschrift für die Gesamte Innere Medizin und ihre Grenzgebiete (Leipzig). 12 (13), 577-81 (1 July 1957).
- RECHENBERGER (J.) (3).  
The clinical significance of copper metabolism. Physiology and pathology of serum copper.  
Zeitschrift für die Gesamte Innere Medizin und ihre Grenzgebiete (Leipzig). 12 (14), 627-33 (15 July 1957).
- REICHENBERGER (R.).  
Serum kupfer und Schilddrüsenaktivität. Dtsch. Zschr. Ver. Stoffwechselskr. (Leipzig). 17, (3), 139-45 (July 1957).
- REMY (D.).  
Der Eisenstoffwechsel bei der Hämochromatose.  
Dtsch. Med. Wschr. 79, 1042 (1954).
- ROBERTS (R.H.).  
Hemolytic anemia associated with copper sulfate poisoning.  
Mississippi Doct. 292-4 (March 1956).
- ROGERS (L.L.), GAVIENOLSKI (A.M.).  
Metabolic characteristics of alcoholics : Serum copper determination in alcoholics.  
Quarterly J. of Studies on alcohol. (New Haven), 20, (1), 33-7 (March 1959).
- ROTH (W.), PRIJS (B.), ERLIENMEYER (H.).  
Metallionen und Resistenzbildung bei Tbc-Kulturen. II.  
Helv. Chim. Acta. 37, (7), 236, 2010-3 (1954).
- ROTH (W.), SORKIN (E.), ERLIENMEYER (H.).  
Über die Wirkung des Urins in Gegenwart von Metallionen auf Kulturen von Tuberkelbazillen und Staphylokokken.  
Schweiz. Ztschr. allg. Path. 15, 300-7 (1952).
- ROTHLIN (E.), UNDRITZ (E.), ZEINER (K.).  
Bases expérimentales du traitement de diverses anémies, avec le Co, le Cu, et le Fe.  
Schweiz. Medz. Wochenschr. 86, (51-52), 1428-36 (Décembre 1956).
- ROTTGER (H.).  
Behavior of serum copper in gynecologic diseases.  
Z. Geburtshilfe u. Gynäkol. 135, 80-93 (1951).
- ROYO MUÑOZ (F.), MARCO GUIS (F.).  
Copper determination in animal tissues, by means of diphenylthiocarbazone.  
Rev. Espan. Fisiol. 4, 293-98 (Dec. 1948).



- RUBBO (S.D.), ALBERT (A.), GIBSON (S.D.) (1).  
Influence of chemical constitution on antibacterial activity ; antibacterial action of 8-hydroxyquinoline (oxine).  
Br. J. Exper. Pathol. 31, 425-41 (June 1950).
- RUBBO (S.D.), EDGAR (J.), VAUGHAN (G.) (2).  
Chemotherapy of tuberculosis. I. Antituberculous activity of verazide and relatde hydrazones.  
Am. Rev. Tbc and pulmonary diseases (N.Y.). 76, (3), 331-45 (Septem.1957).
- RUBBO (S.D.), VAUGHAN (G.).  
Chemotherapy of tuberculosis. II. Some observations on the pharmacology of verazide.  
Am. Rev. Tbc. and pulm. dis. (N.Y.), 76, (3), 346-59 (Sept. 1957).
- RUMMEL (A.).  
Die Bewertung des Eisen und Kupferspiegels der gesunden und kranken Frau. Ein Beitrag zur Bedeutung der Schwermetalle beim Unterleibskrebs der Frau.  
Medizinische (Stuttgart). 22 (30 May 1959).
- RYDER (M.L.).  
Studies of sulphur, phosphorus and some metals (Cu) in skin follicles.  
Journal of histochemistry and cytochemistry (Baltimore). 133-8 (1959).
- RYS (R.).  
Iron content in the serum of cows with hypocupremia.  
Nature (London), 183, 4.675 (6 June 1959).
- SACHS (A.), LEVINE (V.E.), MILL (F.C.), HUGHES (R.).  
Copper and iron in human blood.  
A.M.A. Arch. Int. Med. 71, 489 (1943).
- SACHS (A.), LEVINE (V.E.), SCHEIT (A.), HUGHES (R.).  
Rise in serum copper following oral administration of copper sulfate.  
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. (N.Y.). 46, 192 (1941).
- SANCVIC (K.), NJOLIC (V.).  
Studies on copper metabolism in the organism following experimental introduction of sarcoma with carcinogena.  
Glas. Srpske. Akad. Nauka. Odelj. Med. 217, 10-21 (1956).
- SANDELL  
Chemical analysis. Vol. 3. (2 ème edit. interscience).  
colorimetric determination of traces of metal.
- SARATA (U.). (1).  
Studies in the biochemistry of copper ; copper and pigmentation of skin and hair. Jap. J. Med. Sci. 3, biochem. 79-84 (1935).
- SARATA (U.). (2).  
Further observations on the relation between blood copper and sexual phenomenon.  
Jap. J. Med. Sci. 3, biochem. 179-87 (1935).
- SARATA (U.). (3).  
Copper and pigmentation of leaves and flowers.  
Jap. J. Med. Sci. 3, biochem. 187-205 (1935).



- SARATA (U.). (4).  
Variations on copper content of the assimilative and reproductive organs during the development in plants.  
Jap. J. Med. Sci. 3, Biochem. 207-10 (1935).
- SARATA (U.). (5).  
Normal blood copper content in horse and blood copper in septic conditions.  
Jap. J. Med. Sci. II Biochem. 4, 203-6 (Nov. 1938).
- SAVAGNONE (E.).  
Cuivre sanguin : sa variation journalière dans les processus inflammatoires.  
Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. (Univ. Palerme), 29, (4), 670-2 (1953).
- SCHAPIRA (G.), DREYFUS (J.C.).  
Métabolisme du fer.  
Dans Polonovski : exposés annuels de biochimie médicale. 14<sup>ème</sup> série (Masson et C<sup>o</sup>, Paris), (1953).
- SCHECHTER (M.M.), JOHNS (CH.A.).  
Hépatolenticular degeneration.  
Review of the literature and report of a case with dimercaprol (BAL) therapy.  
A.M.A. Arch. Int. Med. 91, 541 (1943).
- SCHEINBERG (I.H.), GITLIN (D.).  
Deficiency of ceruloplasmin in patients with hepatolenticular degeneration.  
Science 116, 484-5 (31 oct. 1952).
- SCHNETZ (H.).  
Über den Einfluss des Kupfers auf den Kohlehydratstoffwechsel des Menschen  
Ztschr. Klin. Med. 129, 739-59 (1936).
- SCHONHEIMER (R.), HERKEL (W.).  
Über die Bedeutung des Kupfer für die Lebercirrhose.  
Klin. Wschr. 9, 1449 (1930).
- SCHONHEIMER (R.), OSSEL (F.).  
Der Kupfergehalt normaler und pathologischer Organe.  
Zschr. physiol. chem. 180, 249-58 (1929).
- SCHUBERT (G.), MAURER (W.), RIEZLER (W.) (1).  
Radioaktive Indikatoren bei Untersuchungen über den Kupferstoffwechsel-Absorption, Speicherung und Ausscheidung des Radiokupfers im Tierexperiment und beim Menschen.  
Z. Inn. Med. 3, 170 (1948).
- SCHUBERT (G.), MAURER (W.), RIEZLER (W.) (2).  
Indikatoruntersuchungen mit Radiokupfer. Der Mechanismus der Kupferabsorption bei Zufuhr verschieden hoher physiologischer Kupferdosen und nach Vorbehandlung mit Kupfer und Eisen.  
Z. Inn. Med. 3, 178 (1948).
- SCHUBERT (G.), MAURER (W.), RIEZLER (W.) (3).  
Tierexperimentelle Indikatoruntersuchungen mit Radiokupfer bei der Tuberkulose.  
Klin. Wschr. 26, 493-4 (15 Aug. 1948), und Indikatoruntersuchungen mit Radiokupfer bei der alimentären Ratteanämie., Klin. Wschr. 26, 555-7.



- SCHUBERT (G.), RIEZLER (W.).  
Indicatoruntersuchungen mit Radioskupfer bei Menschen.  
Klin. Wschr. 24-25, 304-6 (15 février 1947).
- SCHUBERT (G.), VOGT (H.), MAURER (W.), RIEZLER (W.).  
Tierexperimentelle Indikatoruntersuchungen mit radioaktiven Kupfer.  
Naturwissenschaften. 31, 589-90 (1943).
- SCHULTZE (M.O.) (1).  
Effect of deficiencies in copper and iron on cytochromoxydase of rat tissues.  
J. Biol. Chem. 129, 729-37 (Aug. 1939).
- SCHULTZE (M.O.) (2).  
Metallic elements and blood formation.  
Physiol. Rev. 20, 37-67 (Jan. 1940).
- SCHULTZE (M.O.) (3).  
Relation of copper to cytochrome oxydase and hematopoietic activity of bone marrow of rats.  
J. Biol. Chem. 138, 219-24 (1941).
- SCHULTZE (M.O.), ELVEHJEM (C.A.), HART (E.B.).  
The availability of copper in various compounds as a supplement to iron in hemoglobin formation.  
J. Biol. Chem. 106, 735-44 (1934).
- SCHULTZE (M.O.) KUIKEN (K.A.).  
Effect of deficiencies in copper and iron on catalase activity of rat tissues.  
J. Biol. Chem. 137, 727-34 (Feb. 1941).
- SCHULTZE (M.O.), SIMONS (S.J.).  
Use of radioactive copper in studies on nutritional anemia of rats.  
J. Biol. Chem. 142, 97-106 (Jan. 1942).
- SEDAN (J.).  
Les sels de cuivre dans la thérapeutique des oculistes romains.  
Rev. Trachôme (Paris), 2, 142-6 (1925).
- SIEMERLING (E.), OLOFF (H.).  
Pseudosklerose (Westphal-Strümpell) mit Cornealring (Kayser-Fleischer) und doppelseitiger Scheinkatarakt, die nurbeiseitlicher Beleuchtung sichtbar ist und die nach der Verletzung durch Kupfersplitter entstehenden Katarakten ähnlich ist.  
Klin. Wschr. 1, 1087 (1922).
- SJOLLEMA (B.) (1).  
Über Kupferdefizienz bei Pflanzen und Tieren.  
Acta Braevia Neerl. 3, 142-4 (1933).
- SJOLLEMA (B.) (2).  
Kupfermangel als Ursache von Krankheiten bei Pflanzen und Tieren.  
Biochem. Zschr. 267, 151-6 (1933).
- SMITH (S.E.), ELLIS (C.N.).  
Copper deficiency in rabbits : achromotrichia, alopecia and dermatosis.  
Arch. Biochem. 15, 81-88 (October 1947).



- SMITH (S.E.), MEDLICOTT (M.).  
Blood picture of iron and copper deficiency anemias in rat.  
Am. J. Physiol. 141, 374-8 (May 1944).
- SMITH (S.E.), MEDLICOTT (M.), ELLIS (G.H.).  
Blood picture of iron and copper deficiency anemias in rabbit.  
Am. J. Physiol. 142, 179-81 (Sept. 1944).
- Von SORKIN (E.), ROTH (W.), ERLENMEYER (F.).  
Über die Beeinflussung tuberkulostatischer Wirkungen durch Cu.  
Helv. Chim. Acta. 35 (5), n° 215 (1952), 1736-41.
- STADLER (H.).  
Die Erkrankungen der Westphal-Wilson-Pseudosklerose als Stoffwechselproblem.  
Dtsch. Med. Wschr. 66, 1325 (1940).
- STEIN (W.H.), BEARN (A.G.), MOORE (S.).  
The aminoacid content of the blood and urine in Wilson's disease.  
J. Clin. Invest. 33, 410 (1954).
- STOKES (J.B.), BECK (A.B.), CURNOW (D.H.), TOPLISS (J.G.), SAINT (E.G.).  
Aspects of copper metabolism in Wilson's disease.  
Austral. Ann. Med. 4, 36 (1955).
- STRANSKY (E.), DAVIS-LAWAS (D.T.), LAWAS (I.L.).  
On serum copper level and its importance in childhood.  
Ann. Paed. Basel. 179, (1), 1-12 (July 1952).
- STRUPPELL (A.).  
Über die Westphal'sche Pseudosklerose and über diffuse Hirnsklerose, insbesondere bei Kindern.  
Deutsch. Zschr. Nerven. 12, 115 (1898).
- STURGEON (P.).  
Normal values for serum iron, copper and free erythrocyte protoporphyrin.  
Pediatrics, 13, 107-25 (Feb. 1954).
- STURGEON (P.), BRUBAKER (C.).  
Carence cuprique chez les enfants ; étude d'un syndrome caractérisé par une hypocuprémie, une carence en fer, une anémie et une hypoprotéinémie.  
A.M.A.J. of diseases of children (Chicago), 92, (3), 254-65 (September 1956).
- STUTTER (M.D.), RAWSON (D.C.), Mc KEOWN (J.A.), HASKELL (A.R.).  
Chronic copper toxicosis in sheep.  
Amer. J. of Veterinary research (Chicago), 19, 73 (Oct. 1958).
- STUTTGEN (G.) (1).  
Die Beeinflussung der Vitiligo durch intravenöse Kupfergaben.  
Hautarzt, 6, (3), 129-30 (März 1955).
- STUTTGEN (G.) (2).  
Effects of isoniazid on biological oxidation with special consideration of metallic complex formation.  
Arzneimitt. Forsch. 5, (12), 703-5 (Dece. 1955).



- SULLIVAN (F.L.), MARTIN (H.L.), Mac DOWELL (F.).  
Wilson's disease (hepatolenticular disease) family study.  
A.M.A. Arch. Neurol. Psychiatr. 69, 756-59 (June 1953).
- SYMPOSIUM on COPPER METABOLISM (John Hopkins University - 1950)  
Copper metabolism. A symposium on animal, plant and soil relationships.  
Sponsored by the McCollum-Pratt Institute of the John Hopkins University (n° 5).  
Ed. by William D. Mc Elroy and Bentley Glass. (Baltimore). John Hopkins Press (1950), 443 pages.
- TAVERNIER (J.), BESSON (S.).  
La répartition erythroplasmatique du cuivre et sa fixation sur les hématies.  
Bull. Soc. Sci. Nancy (16, (3), 174-8 (1957).
- THOMPSON (R.H.S.), WATSON (D.).  
Serum copper levels in pregnancy and pre-eclampsia.  
J. Clin. Path. 2, 193-6 (1949).
- THURSTON (M.N.).  
Le cuivre dans les maladies démyélinisantes du système nerveux central.  
Brain. 71, 212-28 (1948).
- TITUS (R.W.), CAVE (H.W.), HUGUES (J.S.).  
Manganese-copper-iron complex as factor in hemoglobin building.  
J. Biol. Chem. 80, 565-70 (Dec. 1928).
- TOMPSETT (S.L.).  
The excretion of copper in urine and faeces and its relation to the copper content of the diet.  
Biochem. J. (London), 28, 2088-91 (1934).
- TURPIN (R.), SCHMITT-JUBEAU (H.), JEROME (H.).  
Etude de la cuprémie au cours de diverses endocrinopathies infantiles.  
VIème Congrès international de Pédiatrie (Zurich, 1950).  
C.R. dans Sem. Hôp. Paris. 45, 2289-2308 (1953).
- UZMAN (L.L.) (1),  
On the relationship of urinary copper excretion to the aminoaciduria in Wilson's disease.  
Am. J. Med. Sci. 226, 645-52 (1953).
- UZMAN (L.L.) (2).  
Histochemical localization of copper with rubeanic acid.  
Lab. Invest. 5, 299-305 (May-June 1956).
- UZMAN (L.L.), DENNY-BROWN (D.).  
Aminoaciduria in hepatolenticular degeneration.  
Am. J. Med. Sci. 215, 599 (1948).
- UZMAN (L.L.), HOOD (B.).  
The familial nature of aminoaciduria of Wilson's disease.  
Am. J. Med. Sci. 223, 392 (1952).



- UZMAN (L.L.), IBER (F.L.).  
The intrahepatic distribution of copper in relation to the pathogenesis of hepatolenticular degeneration.  
A.M.A. Arch. of. Path. (Chic.), 64, (4), 464-79 (Oct. 1957).
- UZMAN (L.L.), IBER (F.L.), CHALMERS (T.C.), KNOWLTON (M.).  
The mechanism of copper deposition in the liver in hepatolenticular degeneration.  
Am. J. Med. Sci. 231, 511-18 (May 1956).
- UZMAN (L.L.), JACKUS.  
Anneau de Kayser-Fleischer : étude histochimique et électromicroscopique.  
Neurology. (May 1957).
- VRIES (S.I. de).  
Iron and copper metabolism in pregnancy and new-born infants.  
Geneesk. bl. 45, (6), 187-213 (1952).
- VRIES (S.I. de).  
Ned. Tijdschr. Verlosk. 53, 137-63 (1953).
- WALLGREN (G.R.).  
Serum copper in malignant and benign tumors.  
Finska. läk. Sällsk. handl. 96, 196-201 (1953).
- WARBURG (O.), KREBS (H.A.).  
Über locker gebundenes Kupfer und Eisen im Blutserum.  
Biochim. Z. 190, 143 (1927).
- WARREN (J.P.), BARL (C.J.), THOMPSON (R.H.S.).  
The distribution of copper in human brain.  
Brain. Vol. 83. Part. IV (1960).
- WEITZEL (W.).  
Die physiologische Bedeutung des Kupfer unserer Nahrung.  
Fortsch. Med. 53, 352-4 (1935).
- WICK (J.J. van), BAXTER (J.H.), AKEROYD (J.H.), OTULSKY (A.G.).  
The anemia of copper deficiency in dogs compared with that produced by iron deficiency.  
Bull. John Hopkins Hosp. 93, 41 (1953).
- WILSON (S.A.K.).  
Progressive lenticular degeneration : a familial nervous disease, associated with cirrhosis of the liver.  
Brain. 34, 295 (1912).
- WINTROBE (M.M.).  
Clinical Hematology.  
Lea and Febinger (Philadelphia). (1951).
- WINTROBE (M.M.), CARTWRIGHT (G.E.).  
Copper metabolism in Wilson's disease.  
Trans. Assoc. am. physicians. 67, 232-41 (1954).



- 221
- WINTROBE (M.M.), CARTWRIGHT (G.E.), GUBLER (C.J.).  
Studies on function and metabolism of copper.  
J. Nutrition. 50, 395-419 (August 1953).
  - WINTROBE (M.M.), CARTWRIGHT (G.E.), LAHEY (M.E.), GUBLER (C.J.).  
The rôle of copper in hemopoiesis.  
Trans. Assoc. Am. Physicians. Vol. 64, 310-5 (1951).
  - WOLFF (H.P.), LANG (N.), KNEDEL (M.) (1).  
Untersuchungen über die Bindung des Kupfers an Serumeiweisskörper.  
Zschr. exper. Med. 125, 359 (1955).
  - WOLFF (H.P.), LANG (N.), KNEDEL (M.) (2).  
Investigations of the binding of copper to serum proteins with  
copper 64 (Univ. Marburg. ad. Lahn. Ger.).  
Klin. Wochschr. 33, 186-7 (1955).
  - YOSHIKAWA (H.) (1).  
Studies in the biochemistry of copper ; copper in keratinous ap-  
pendages of skin.  
Jap. J. Med. Sci. Biochem. 3. 269-72 (1935-7).
  - YOSHIKAWA (H.) (2).  
State of copper in tissues.  
Jap. J. Med. Sci. II. Biochemistry. 4, 211-17 (Dec. 1939).
  - YOSHIKAWA (H.) (3).  
Metabolism of copper and hypophysis.  
Jap. J. Med. Sci. Biochemistry : II. 4, 231-2 (December 1939).
  - YOSHIKAWA (H.) (1).  
Studies in biochemistry of copper. Copper in keratinous appendages  
of skin.  
Jap. J. Med. Sci. II, 3 ,269-72 (Oct. 1937).
  - YOSHIKAWA (H.), et coll.  
Administration expérimentale de cuivre radioactif chez le chien.  
Exptl. Med. 75, 486 (1942).
  - ZAUSCH (G.).  
Modification of iron and copper determination with use of simple  
apparatus.  
Arztl. Wochschr. 11, 65-8 (11 Jan. 1956).
  - ZIMDAHL (W.T.), HANSL, HYMAN (I.), LUPARELLO.  
Études sur la dégénérescence hépatolenticulaire (maladie de Wilson).  
J. Labor. & Clin. Med. 48, 106-16 (July 1956).
  - ZIMDAHL (W.T.), HYMAN (I.), BOOK (E.D.).  
Métabolisme du cuivre dans la dégénérescence hépatolenticulaire.  
Neurology. 3, 569 (Aug. 1953).
  - ZIMDAHL (W.T.), HYMAN (I.), STAFFORD (W.F.).  
The effect of drugs upon the copper metabolism in hepatolenticular  
degeneration and in normal subjects. J. Labor. & Clin. Med, 43, 774 (1954)
  - ZIPURSKY (A.), DEEPSKY (H.), MARKOWITZ (H.), CARTWRIGHT (G.E.),  
WINTROBE (M.M.). Studies in copper metabolism. XXIV. hypocupremia in



## TABLE des MATIERES

|                                                         | <u>Pages :</u> |
|---------------------------------------------------------|----------------|
| <u>Introduction</u> .....                               | 10             |
| I. <u>Cuivre dans le Règne Végétal</u> .....            | 12             |
| Teneur en cuivre de quelques aliments .....             |                |
| II. <u>Cuivre dans le Règne animal</u> .....            | 18             |
| 1. Le cuivre dans le sang .....                         | 20             |
| 2. Le cuivre dans les tissus .....                      | 25             |
| 3. Le cuivre dans le lait .....                         | 28             |
| 4. Le métabolisme du cuivre .....                       | 30             |
| 5. Métabolismes comparés du fer et du cuivre ...        | 32             |
| 6. Etude de la carence en cuivre chez l'animal..        | 37             |
| III. <u>Méthodes de dosage du Cuivre</u> .....          | 43             |
| 1. Spectrographie .....                                 | 44             |
| 2. Polarographie .....                                  | 48             |
| 3. Méthodes colorimétriques de dosage du cuivre.        | 52             |
| IV. <u>Le Cuivre en Clinique Humaine</u> .....          | 63             |
| 1. Résultats des dosages chez l'homme .....             | 63             |
| 2. Variations pathologiques du taux de la<br>cuprémie.. | 65             |
| 3. Cuivre et maladies infectieuses .....                | 69             |
| 4. Action du Cu complexé .....                          | 75             |
| 5. Cuivre et cancer .....                               | 79             |
| 6. Cuivre et glandes endocrines .....                   | 81             |
| 7. Cuivre et affections hépatiques .....                | 82             |
| 8. Cuivre et dermatologie .....                         | 84             |
| 9. Cuivre et système nerveux central .....              | 86             |
| <u>Observations</u> .....                               | I              |
| <u>Conclusions</u> .....                                | VIII           |
| <u>Bibliographie</u> .....                              | 96             |





